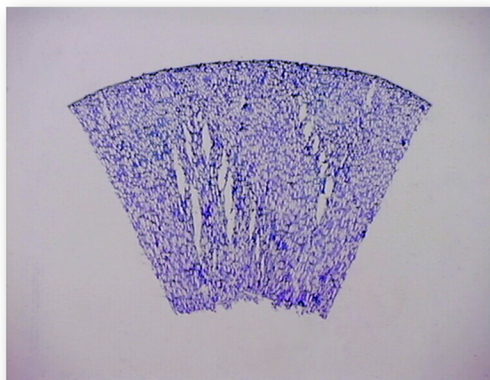


# OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE PROGENIES EN UN PROGRAMA DE MEJORA DE ACEITUNA DE MESA



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**



**Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola**

**TESIS DOCTORAL**

**OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE PROGENIES EN UN  
PROGRAMA DE MEJORA DE ACEITUNA DE MESA**



**DOCTORANDO:** D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> del Rocío Jiménez González

**DIRECTORAS:** Dra. Pilar Rallo Morillo  
Dra. María Paz Suárez García

**TUTORA:** Dra. Carmen Ortega de la Torre

Sevilla, diciembre de 2012

**OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE PROGENIES EN UN  
PROGRAMA DE MEJORA DE ACEITUNA DE MESA**

D<sup>a</sup> Pilar Rallo Morillo, Profesora Titular del Departamento de Ciencias Agroforestales de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Sevilla y D<sup>a</sup> María Paz Suárez García, Catedrática de Escuela Universitaria del mismo Departamento

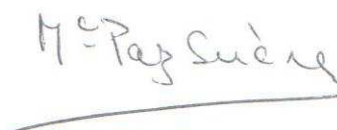
**INFORMAN:**

Que el trabajo titulado “**Optimización de métodos de evaluación de progenies en un programa de mejora de aceituna de mesa**”, ha sido realizado por **D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> del Rocío Jiménez González** bajo su dirección, se considera finalizado y reúne los requisitos necesarios para su exposición y defensa como Tesis Doctoral en el Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola de la Universidad de Sevilla

Sevilla, diciembre de 2012



Fdo: Dra. Pilar Rallo Morillo



Fdo: Dra. María Paz Suárez García



**TÍTULO DE LA TESIS:** “Optimización de métodos de evaluación de progenies en un programa de mejora de aceituna de mesa”

**DOCTORANDO:** D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> del Rocío Jiménez González

**ESCRITO RAZONADO DEL TUTOR DE LA TESIS**

(Ratificando el informe favorable de las directoras)

D<sup>a</sup> Carmen Ortega de la Torre, como tutora de la Tesis Doctoral de D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> del Rocío Jiménez González, ratifica el informe favorable dado por las directoras de la Tesis: Dra. Pilar Rallo Morillo y Dra. María Paz Suárez García, para su exposición y defensa.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la Tesis Doctoral.

Sevilla, diciembre de 2012

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of loops and curves, representing the name of the tutor.

Fdo: Dra. Carmen Ortega de la Torre

## AGRADECIMIENTOS

---

Me gustaría comenzar expresando mi gratitud a todas aquellas personas que, de algún modo, han contribuido a la realización de la presente Tesis Doctoral.

En primer lugar, a mis directoras: Pilar Rallo Morillo y María Paz Suárez García. A las dos os doy las gracias por iniciarme en el mundo de la investigación, la mejora genética y sobre todo, a profundizar mis conocimientos sobre el cultivo del olivo. Gracias por vuestra disponibilidad en estos años, especialmente en las revisiones finales. ¡No podía haber tenido mejores directoras que vosotras!

Pilar, lo primero darte las gracias por la oportunidad que me has brindado de formar parte del programa de mejora y por todo lo que he aprendido de ti en estos años. Gracias por tu ayuda incondicional, por tus consejos y, en especial, por tu amistad.

Maripaz, te agradezco tu dedicación absoluta, porque cada día que ha durado esta Tesis has estado ahí. Gracias por animarme en los momentos duros (que han sido más de uno y más de dos), y por confiar siempre en mí.

A Hava Rapoport por abrirme las puertas del Instituto de Agricultura Sostenible de Córdoba y descubrirme el mundo de la Histología. Gracias por hacerme pensar y reflexionar tanto, por tu amistad, consejos y sobre todo, por enseñarme a *pescar y a dirigir este barco*.

A mi tutora, Carmen Ortega, por facilitarme todos los trámites con el Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola de la Universidad de Sevilla y darme la oportunidad de poder defender en él esta Tesis. Gracias por todo tu apoyo.

Al Ministerio de Educación y Ciencia, por la concesión y financiación de los Proyectos de Investigación AGL2003-08768-C02-02, AGL2006-12568-C02-02, AGL2007-65184-C02-02 y AGL2009-07248, dentro de los cuales se enmarca el presente trabajo.

A mis compañeros de todos los días, Laura Casanova, Ana Morales, Francisco Arenas, Mireia Corell, Antonio Cerdá, Fernando Martínez, Francisco Perea, Mar Cátedra, Alfonso Moriana, Rafael Fernández, Pedro González, Alberto Horcada y Manolo Aguilar, por los buenos momentos que hemos pasado juntos, por toda su ayuda y por su amistad.

## AGRADECIMIENTOS

---

A los demás compañeros de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Sevilla, sobre todo a Manuel José León Bonillo, David Parejo y Eva Cruz.

A Paloma Moreno, por toda su ayuda, no sólo por su excelente trabajo en la toma de datos, sino por su enorme amistad.

A Alejandra Expósito y a Felipe Pérez por vuestra amistad y complicidad en estos años.

Quiero expresar mi enorme gratitud a todos los alumnos que han participado a lo largo de estos años en el programa de mejora de aceituna de mesa: Meritxell Justicia, Montserrat Baena, Anabel Rodicio, Adrián Guil, Evelyn María Toledo, Ana Belén Martínez, Isabel María Raya, Adrián Molina, Magdalena González, Celia López, José de Haro, Carmen Ledesma y Vanesa Rocío Torres. Sin vuestro trabajo y esfuerzo esta Tesis no hubiera sido posible. Agradecer especialmente a Meritxell Justicia, no sólo por su aportación en el programa de mejora sino por su amistad y por echarme un cable en el diseño de la portada de esta Tesis.

A José Ordovás por su gran ayuda en estos años, no sólo en la Estadística sino a lo largo de sus años como director del Departamento de Ciencias Agroforestales, que fueron mis largos años como profesora interina. Gracias Pepe.

A *mi* María Ester García Cuevas, por tener la santa paciencia de repetirme las cosas quinientas veces, por resolverme tantas dudas y sobre todo por tu gran amistad. ¡Qué infinita paciencia has tenido conmigo! Mil gracias María Ester, siempre nos quedará las berenjenas con tomate.

A Inmaculada Moreno, Sofiene Hammami y a M<sup>a</sup> Angeles Pérez por ayúdame y hacerme sentir como una más en Córdoba. Gracias por los buenos momentos que me habéis dado en el laboratorio.

A mi amiga Mayte Gómez por aguantar mis largos monólogos de Tesis. Espero que ahora que termina esta andadura podamos recuperar nuestras salidas de cine y café. Gracias por enseñarme la verdadera amistad. Tengo mucha suerte de tenerte como amiga.

## AGRADECIMIENTOS

---

A todos mis amigos del Pedroso, especialmente a Rocío Cava, Lola, Fran y Rubén. Gracias a los cuatros por ser mis mejores amigos y estar siempre ahí, sobre todo en los duros momentos.

A mis padres, Jesús y Lely. Gracias papá, por enseñarme a ser constante y a luchar por lo que uno quiere. Gracias mamá, por estar siempre ahí, por todo tu apoyo y cariño, eres la mejor madre del mundo. Espero que con esta Tesis estéis un poquito más orgullosos de vuestra hija.

A mi tía Loles y a mi tío Alejandro, por ser ambos un referente grande en mi vida. Os quiero mucho a los dos.

A mis hermanos Lucía, Carlos, Patricia, Lucía, Marina y a mis cuñados Antonio, Bea y Javi. Gracias por soportarme todos estos años.

A mis cuatro sobrinos Manolo, Carlos, María y Marina que siempre me regalan una sonrisa. Espero que cuando puedan leer esta Tesis puedan estar orgullosos de su tía y que el esfuerzo, constancia y paciencia que he empleado estos años les sirva de ejemplo para sus vidas. Os quiero mucho a los cuatro.

A Loly, Moisés, Conchita, Lucio, Carmina, Laura, Pablo, Tivi, Puri, Maribel y demás familia. Gracias por todo vuestro cariño. Cuando termine esta Tesis, espero tener más tiempo para las visitas y rutas turísticas.

A lo mejor de mi vida, a **MOISÉS**, por todo su apoyo y cariño. Si hay alguien que debe tener el título de Doctor ese eres tú: doctor en paciencia y generosidad. Gracias por quererme tal como soy y sobre todo por estar **SIEMPRE** ahí. Sin ti esto no hubiera sido posible, sólo espero que pronto te pueda recompensar por todo estos años.

A todos **MUCHAS GRACIAS**



*“Lo posible de lo imposible se mide por la constancia del ser humano”*

*A Moisés*

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE.- .....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.-.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.-.....	xv
RESUMEN.- .....	xxvi

<b>I.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.- .....</b>	<b>1</b>
<b>I.1.- El cultivo del olivo: origen y expansión.-.....</b>	<b>1</b>
<b>I.2.- El olivar de mesa.-.....</b>	<b>3</b>
<b>I.3.- Mejora genética del olivo, con especial referencia a la aceituna de mesa.- .....</b>	<b>5</b>
I.3.1.- Programas de mejora.- .....	6
I.3.2.- Etapas en la mejora genética del olivo.-.....	8
I.3.2.1.- Generación de nuevo material.- .....	8
I.3.2.2.- Progenies.- .....	9
I.3.2.3.- Preselecciones.- .....	9
I.3.2.4.- Selecciones avanzadas.- .....	11
<b>I.4.- Estrategias para aumentar la eficacia en programas de mejora de olivo.- .....</b>	<b>11</b>
I.4.1.- Selección precoz.- .....	11
I.4.2.- Selección indirecta.- .....	12
I.4.3.- Tiempo mínimo de selección.- .....	13
<b>I.5.- La calidad en aceituna de mesa.- .....</b>	<b>14</b>
I.5.1.- Parámetros de calidad.- .....	15
I.5.2.- El fenómeno de molestado en aceituna de mesa.- .....	16
I.5.2.1.- Evaluación de daños similares en otros frutos.- .....	18
I.5.2.2.- Evaluación del molestado en aceituna de mesa.- .....	19
I.5.2.3.- Implicaciones del molestado en las células y tejidos del fruto.- .....	21

## **CAPÍTULO 1: EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD EN PROGRAMAS DE MEJORA DE ACEITUNA DE MESA.-**

<b>Capítulo 1.1.- Evaluación de la variabilidad e influencia de los progenitores.- .....</b>	<b>23</b>
<b>1.1.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.- .....</b>	<b>23</b>

## ÍNDICE GENERAL

---

<b>1.1.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-</b>	<b>24</b>
1.1.2.1.- Material vegetal y toma de datos.-	24
1.1.2.1.1.- Recolección y toma de muestras en campo.-	28
1.1.2.1.2.- Toma de datos.-	35
1.1.2.2.- Análisis estadístico.-	43
<b>1.1.3.- RESULTADOS.-</b>	<b>46</b>
1.1.3.1.- Variabilidad observada en la progenie.-	46
1.1.3.1.1.- Producción.-	46
1.1.3.1.2.- Peso del fruto.-	50
1.1.3.1.3.- Relación pulpa-hueso.-	52
1.1.3.1.4.- Longitud del fruto.-	54
1.1.3.1.5.- Anchura del fruto.-	56
1.1.3.1.6.- Índice de forma del fruto.-	58
1.1.3.1.7.- Longitud del hueso.-	60
1.1.3.1.8.- Anchura del hueso.-	62
1.1.3.1.9.- Índice de forma del hueso.-	64
1.1.3.1.10.- Índice de madurez.-	66
1.1.3.1.11.- Textura de la pulpa.-	68
1.1.3.1.12.- Rendimiento graso.-	70
1.1.3.1.13.- Humedad del fruto.-	73
1.1.3.2.- Estudio de la varianza y de la repetibilidad de los caracteres evaluados.-	75
1.1.3.3.- Influencia de los cruzamientos en los parámetros estudiados.-	81
1.1.3.3.1.- Análisis de todos los cruzamientos.-	81
1.1.3.3.2.- Análisis del cruzamiento recíproco ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla’ y ‘Manzanilla’ x ‘Arbequina’.-	90
1.1.3.4.- Influencia de los progenitores en los parámetros estudiados.-	92
1.1.3.4.1.- Influencia del progenitor femenino.-	92
1.1.3.4.2.- Influencia del progenitor masculino.-	96
<b>1.1.4.- DISCUSIÓN.-</b>	<b>99</b>
1.1.4.1.- Variabilidad observada en la progenie.-	99
1.1.4.2.- Estudios de la varianza y de la repetibilidad de los caracteres.-	104
1.1.4.3.- Influencia de los cruzamientos en los parámetros evaluados.-	109
1.1.4.4.- Influencia de los progenitores en los parámetros evaluados.-	111
 <b>Capítulo 1.2.- Simplificación del proceso de evaluación.-</b>	 <b>115</b>
<b>1.2.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-</b>	<b>115</b>
<b>1.2.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-</b>	<b>117</b>



## ÍNDICE GENERAL

1.2.2.1.- Material vegetal y toma de datos.-	117
1.2.2.2.- Análisis estadístico.-	117
<b>1.2.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.-</b>	<b>117</b>
1.2.3.1.- Selección indirecta.-	117
1.2.3.2.- Tiempo mínimo de selección.-	123

## CAPÍTULO 2: MOLESTADO EN ACEITUNA DE MESA.-

### Capítulo 2.1.- Puesta a punto de una metodología para el análisis histológico

<b>del fenómeno del molesto en aceituna de mesa.-</b>	<b>133</b>
<b>2.1.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-</b>	<b>133</b>
<b>2.1.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-</b>	<b>135</b>
2.1.2.1.- Material vegetal, daño inducido a los frutos y aderezo.-	135
2.1.2.1.1.- Campaña 2008.-	135
2.1.2.1.2.- Campaña 2009.-	138
2.1.2.2.- Fijación de los frutos.-	140
2.1.2.3.- Proceso histológico.-	140
2.1.2.3.1.- Recorte de la zona dañada.-	140
2.1.2.3.1.1.- Frutos aderezados con molesto no inducido. Campaña 2008.-	140
2.1.2.3.1.2.- Frutos frescos (sin aderezar) con molesto inducido. Campaña 2009.-	141
2.1.2.3.2.- Deshidratación.-	142
2.1.2.3.3.- Infiltración, orientación e inclusión en parafina.-	144
2.1.2.3.4.- Obtención de los cortes con el microtomo rotativo.-	147
2.1.2.3.5.- Montaje en portaobjetos.-	147
2.1.2.3.6.- Tinción y desparafinado de los cortes obtenidos.-	148
2.1.2.3.7.- Observaciones realizadas.-	152
2.1.2.4.- Análisis estadístico.-	152
<b>2.1.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.-</b>	<b>152</b>
2.1.3.1.- Puesta a punto de la metodología histológica.-	152
2.1.3.2.- Descripción cualitativa preliminar de los daños por molesto en los frutos sin aderezar y aderezados.-	161
2.1.3.2.1.- Daño externo en fruto entero.-	161
2.1.3.2.2.- Daño observado en las porciones de frutos fijados antes de su procesamiento en parafina.-	162
2.1.3.2.3.- Daño en las preparaciones histológicas.-	164
2.1.3.3.- Análisis del parámetro “Índice de molesto”.-	170

## ÍNDICE GENERAL

<b>Capítulo 2.2.- Evaluación cuantitativa del fenómeno del molestado en frutos de aceituna de mesa .....</b>	<b>177</b>
<b>2.2.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.- .....</b>	<b>177</b>
<b>2.2.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.- .....</b>	<b>178</b>
2.2.2.1.- Material vegetal- .....	178
2.2.2.2.- Inducción del molestado y observaciones realizadas antes del proceso histológico.- .....	179
2.2.2.3.- Proceso histológico y medidas realizadas.- .....	181
2.2.2.4.- Análisis estadístico.- .....	183
<b>2.2.3.- RESULTADOS.- .....</b>	<b>183</b>
2.2.3.1.- Parámetros medidos antes del proceso histológico.- .....	183
2.2.3.1.1.- Intensidad de color.- .....	183
2.2.3.1.2.- Área de la zona dañada.- .....	184
2.2.3.2.- Parámetros medidos después del proceso histológico.- .....	186
2.2.3.2.1.- Número de huecos encontrados en las preparaciones histológicas.- .....	186
2.2.3.2.2.- Distancias a los huecos encontrados en cada preparación histológica.- .....	190
<b>2.2.4.- DISCUSIÓN.- .....</b>	<b>192</b>
2.2.4.1.- Intensidad de color de las zonas dañadas.- .....	192
2.2.4.2.- Área de las zonas dañadas.- .....	193
2.2.4.3.- Efecto del tiempo tras el golpe en los parámetros estudiados.- .....	193
2.2.4.4.- Efecto de las variedades e interacción cultivar/hora en los parámetros analizados.- .....	196
 <b>CAPÍTULO 3: DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES.- .....</b>	<b>199</b>
<b>3.1.- Discusión general.-.....</b>	<b>199</b>
3.1.1.- Evaluación de la variabilidad e influencia de los progenitores.- .....	200
3.1.2.- Simplificación del proceso de evaluación.- .....	202
3.1.3.- Puesta a punto de una metodología para el análisis histológico del fenómeno del molestado en aceituna de mesa.- .....	204
3.1.4.- Evaluación cuantitativa del fenómeno del molestado en frutos de aceituna de mesa.- .....	207
<b>3.2.- Conclusiones.-.....</b>	<b>209</b>
 <b>LISTA DE ABREVIATURAS.- .....</b>	<b>213</b>
<b>GLOSARIO.- .....</b>	<b>221</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.- .....</b>	<b>233</b>
<b>ANEXOS.- .....</b>	<b>249</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

### I.- Revisión Bibliográfica.-

<b>Figura 1.-</b> Ilustración del poeta griego Oppiano, donde se aprecia en la parte superior izquierda el vareo y la recogida de aceitunas. Biblioteca Marciana, Venecia (Italia) (en Jiménez y De Miguel, 2008).....	2
<b>Figura 2.-</b> Difusión del cultivo del olivo en la Cuenca Mediterránea (Rallo, 2005).....	2
<b>Figura 3.-</b> Principales países productores de aceituna de mesa con indicación del porcentaje sobre la producción mundial (COI, 2011). ....	4
<b>Figura 4.-</b> Fases de un programa clásico de mejora genética en olivo (Rallo <i>et al.</i> , 2011b).....	10

### Capítulo 1.1.-

<b>Figura 5.-</b> Cruzamientos llevados a cabo en el IFAPA “Alameda del Obispo” de Córdoba (a) y en la finca comercial de Utrera (Sevilla) (b). ....	25
<b>Figura 6.-</b> Detalle del proceso de obtención de genotipos en el programa de mejora de la Universidad de Sevilla: deshuesado de los frutos para la obtención de las semillas (a); Tratamiento fúngico realizado a las semillas (b); Estratificación de las semillas en placas Petri con perlita humedecida (c); colocación en cámaras de cultivo (d); siembra en alvéolos (e); colocación en cámaras de germinación (f y g); transplante en macetas de 3 L (h); crecimiento forzado en el invernadero (i); detalle del sistema de iluminación y cooling empleado en el invernadero (j); riego y fertilización empleado (k) y colocación de tutores (l). ....	26
<b>Figura 7.-</b> Situación de la plantación de olivos, indicada en color rojo, en el IFAPA Centro las “Las Torres-Tomejil” de Alcalá del Río (Sevilla): polígono 7, parcela 16, recinto 22 (a). Detalle de la plantación en el año 2004 (b) y actualmente (c).....	27
<b>Figura 8.-</b> Esquema de evaluación de los parámetros analizados en las submuestras de las campañas 2006, 2007 y 2008. Se indica además, el tamaño de cada una de las submuestras y el lugar de la determinación de las mismas. ....	36
<b>Figura 9.-</b> Esquema de evaluación de los parámetros analizados en las submuestras de la campaña 2009. Se indica además, el tamaño de cada una de las submuestras y el lugar de la determinación de las mismas. ....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura 10.-</b> Evaluación de parámetros medidos en campo y en el laboratorio de la ETSIA: recolección manual de los genotipos en campo (a); peso exacto de la muestra, mediante balanza de precisión en el laboratorio (b); deshuesado manual (sólo campaña 2006) (c); deshuesado de los frutos mediante un mazo de goma (campañas 2007, 2008 y 2009) (d); medición de la longitud máxima de un fruto, mediante un calibre digital (e) y medición de la longitud máxima de un hueso mediante un calibre digital (f).....	41
<b>Figura 11.-</b> Texturómetro ( <b>Instron Modelo 1011</b> ) utilizado para la evaluación de la textura de la pulpa de los genotipos (a). Detalle de una balanza de precisión, donde puede visualizar el peso de una de las muestras, procedente del genotipo 02-16 (‘Manzanilla Libre’) para la campaña 2006 (b). ....	43
<b>Figura 12.-</b> Histogramas de frecuencia de producción (g/genotipo) por año (2006, 2007, 2008) y producción acumulada para los tres años: <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	48
<b>Figura 13.-</b> Histogramas de frecuencia por cosechas para el parámetro producción (g/genotipo). ....	49
<b>Figura 14.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro peso del fruto (g): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	51
<b>Figura 15.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro relación pulpa-hueso: <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	53
<b>Figura 16.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro longitud del fruto (mm): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	55



## ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura 17.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro anchura del fruto (mm): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). *Considerando la población de datos de todos los años.....	57
<b>Figura 18.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de forma del fruto: <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). *Considerando la población de datos de todos los años.....	59
<b>Figura 19.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro longitud del hueso (mm): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). *Considerando la población de datos de todos los años. ....	61
<b>Figura 20.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro anchura del hueso (mm): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). *Considerando la población de datos de todos los años. ....	63
<b>Figura 21.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de forma del hueso: <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). *Considerando la población de datos de todos los años. ....	65
<b>Figura 22.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de madurez: <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). *Considerando la población de datos de todos los años.....	67
<b>Figura 23.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro textura de la pulpa (KN/100g): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). *Considerando la población de datos de todos los años. ....	69

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 24.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro rendimiento graso sobre peso fresco (%): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años..... 71

**Figura 25.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro rendimiento graso sobre peso seco (%): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años. .... 72

**Figura 26.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro humedad del fruto (%): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años..... 74

**Figura 27.-** Porcentaje de la suma de cuadrados (%) entre cruzamientos (verde), genotipos dentro del cruzamiento (naranja), año (blanco) y residual (amarillo) para los 14 parámetros analizados de los cuatro años: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (**Diseño no equilibrado**). La significación indicada para cada parámetro corresponde a la encontrada entre cruzamientos: \*\* significativo  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ . .... 78

### Capítulo 1.2.-

**Figura 28.-** Gráficos de dispersión obtenidos con los valores normalizados de primera (1ª C) y segunda cosecha (2ª C) para los parámetros producción (**a**), peso del fruto (**b**), relación pulpa-hueso (**c**) y rendimiento graso sobre peso seco (**d**). Se indica además, los coeficientes de correlación de Pearson (**r**) y el porcentaje de genotipos en cada cuadrante (primero (I), segundo (II), tercero (III) y cuarto (IV)). .... 127

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 29.-** Gráficos de dispersión obtenidos con los valores normalizados de primera (1ª C) y tercera cosecha (3ª C) para los parámetros producción (a), peso del fruto (b), relación pulpa-hueso (c) y rendimiento graso sobre peso seco (d). Se indica además, los coeficientes de correlación de Pearson (r) y el porcentaje de genotipos en cada cuadrante (primero (I), segundo (II), tercero (III) y cuarto (IV)). En color rosa se indican los porcentajes y los genotipos con valores normalizados positivos (■) y negativos (▲) para las tres cosechas. .... 128

### Capítulo 2.1.-

**Figura 30.-** Diferentes categorías de molestado para el genotipo 02-469 ('Manzanilla libre'), tanto en grupo como en frutos individuales, tras 4 horas del golpe inducido: (a) 0= Frutos no molestados; (b) 1= Frutos con molestado muy pequeño; (c) 2= Frutos con molestado pequeño; (d) 3= Frutos con molestado grande. .... 137

**Figura 31.-** Resumen de los distintos objetivos y ensayos planteados para los frutos aderezados y frescos de las campañas 2008 y 2009, respectivamente. .... 139

**Figura 32.-** Esquema del recorte de las muestras, realizado a las aceitunas dañadas por el golpe, para obtener dos porciones de mesocarpo (dañado y sin dañar) antes de la deshidratación e infiltración con parafina: (a): aceitunas sin deshuesar, (b): aceitunas ya deshuesadas, (c): rodajas transversales de 4-5 mm, con la zona dañada y la no dañada y (d): las dos porciones obtenidas. .... 141

**Figura 33.-** Ejemplo de la orientación de las porciones molestadas (a) y no dañadas (b) de los frutos de la campaña 2009, durante su colocación en los moldes de parafina... 146

**Figura 34.-** Cortes realizados a un bloque de parafina con el microtomo rotativo (Reichert Histostat 820, Rotary Microtome) (a). Se pueden apreciar las cintas seriadas obtenidas para el genotipo 02-1000, después de los cortes (b) y su posterior montaje en los portaobjetos (c). .... 147

**Figura 35.-** Resumen del proceso histológico seguido por los frutos aderezados y frescos de las campañas 2008 y 2009, respectivamente. .... 151

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

- Figura 36.-** Fotografías realizadas a los frutos del cultivar Manzanilla de Sevilla: **(a)** a las 4 horas y **(b)** a las 24 horas después del impacto, antes de introducirlos en FAE. . 153
- Figura 37.-** Fotografías realizadas a los frutos del cultivar Manzanilla de Sevilla: **(a)** a la semana de fijarse con FAE, tras 4 horas del golpe y **(b)** al mes de fijarse con FAE, tras 24 horas del golpe. .... 153
- Figura 38.-** Porción molestada del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, donde se puede apreciar la forma irregular de la muestra obtenida de frutos sin deshuesar **(a)**. Porción molestada de 'Manzanilla de Sevilla' de la campaña 2009, tras 4 horas desde el impacto, donde la zona dañada resultó más fácil de obtener y delimitar obtenida de frutos deshuesados **(b)**. En todas las imágenes, el exterior del fruto esta hacia arriba y el mesocarpio interior (donde toca al endocarpio) esta abajo. .... 154
- Figura 39.-** Cortes histológicos del genotipo 02-1000 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Gordal Sevillana') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molesto pequeño) **(a)** y de la variedad Manzanilla de Sevilla (campaña 2009), tras 24 horas del impacto **(b)**. En ambos cortes se puede observar las incisiones (→) realizadas en la cutícula (a la derecha del corte) de la zona dañada por el golpe. Corte histológico del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, a las 24 horas del impacto con una incisión demasiado intensa en su cutícula (a la izquierda del corte) **(c)**. .... 155
- Figura 40.-** Zonas molestadas de diferentes frutos frescos (sin aderezar) de 'Manzanilla de Sevilla' **(a y b)** y 'Hojiblanca' **(c y d)** de la campaña 2009 incluidas en los moldes de parafina, tras 4 **(a y b)** y 24 horas **(c y d)** del impacto. Las porciones con safranina **(b y d)** introducida en el paso IV de la deshidratación, se pudieron visualizar exactamente igual que aquellas donde no ha sido añadida **(a y c)**. .... 156
- Figura 41.-** Cortes histológicos de la variedad Hojiblanca de la campaña 2009, tras 4 horas del impacto y después de la incorporación de safranina en el paso IV de la deshidratación. En ellos se puede visualizar el contorno de la zona dañada **(a)**, gracias a la presencia de células más coloreadas (→) **(b)**. .... 157



## ÍNDICE DE FIGURAS

---

- Figura 42.-** Cortes histológicos del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molestado pequeño) (**a**) y del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, tras 24 horas del impacto (**b**), donde se puede apreciar la falta de homogeneidad entre ambos cortes. .... 158
- Figura 43.-** Cortes histológicos del genotipo 02-857 ('Arbequina' x 'Manzanilla de Sevilla') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molestado pequeño) realizadas con el microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) y con un grosor de 12  $\mu$ m. Los cristales de sal originados en el proceso de aderezo (**→**), ocasionaron un deterioro en los cortes seriados obtenidos (**a, b y c**). .... 159
- Figura 44.-** Corte histológico del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, categoría 0 (Frutos sin molestado) realizadas con el microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) y con un grosor de 18  $\mu$ m (**a**). Corte histológico del cultivar Hojiblanca de la campaña 2009, tras 4 horas del impacto, con safranina en el IV paso de la deshidratación y realizadas con un grosor de 12  $\mu$ m (**b**). En ambos cortes histológicos se puede apreciar la óptima calidad de los mismos. .... 159
- Figura 45.-** Cortes histológicos del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, tras 24 horas del impacto y después de las tinciones realizadas en el proceso histológico: (**a**) tinción ácido tánico, cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), safranina y fast green (verde) y (**b**) tinción de azul de toluidina (0,05%) durante 60 minutos. Se puede apreciar que los resultados entre ambas tinciones son similares. .... 161
- Figura 46.-** Fotografías de las manchas producidas por los golpes (*molestado inducido*) de los frutos frescos (sin aderezar) de 'Manzanilla de Sevilla' a diferentes horas: dos horas (**a**), cuatro horas (**b**) y para el genotipo 02-469 ('Manzanilla libre') a las 24 horas tras el golpe (**c**). .... 162

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

- Figura 47.-** Porciones obtenidas en el proceso de recorte de ‘Manzanilla de Sevilla’ (**a** y **c**) y ‘Hojiblanca’ (**b** y **d**) de la campaña 2009, tras 4 (**a** y **b**) y 24 (**c** y **d**) horas del golpe (*molestado inducido*). Para ambas variedades y tiempos, se pudo observar huecos y una coloración más oscura en las zonas dañadas. ‘Manzanilla de Sevilla’ fue la que presentó una mayor coloración y tamaño de huecos que ‘Hojiblanca’, tanto a las 4 (**a**) como a las 24 horas (**c**) del golpe. .... 163
- Figura 48.-** Cortes histológicos de frutos frescos (sin aderezar) de ‘Manzanilla de Sevilla’ a 4 (**a**) y 24 horas tras el impacto (**b**) y de ‘Hojiblanca’ a 4 (**c**) y 24 horas tras el golpe (**d**). Se puede apreciar la presencia de huecos (←) a lo largo del mesocarpo, siempre hacia el interior de la epidermis, sin afectarla directamente (....→), llegando incluso a veces al endocarpo de los frutos..... 165
- Figura 49.-** Cortes histológicos de porciones molestadas de los cultivares Manzanilla de Sevilla y Hojiblanca de la campaña 2009: (**a**) detalle de la pérdida de grosor de la pared celular en ‘Manzanilla de Sevilla’ (→), tras 24 horas del impacto, (**b**) detalle de la pérdida de grosor de la pared celular en ‘Hojiblanca’ (→), tras 24 horas del impacto y (**c**) ‘Manzanilla de Sevilla’ tras 4 horas del impacto, dónde se puede apreciar solo la presencia de huecos (→) sin la pérdida de grosor en las paredes de la zona dañada. .... 166
- Figura 50.-** Cortes histológicos de porciones molestadas: (**a**) del genotipo 02-625, categoría 2 (frutos molestado pequeño) de la campaña 2008, con un grosor de 18µm, (**b**) ‘Manzanilla de Sevilla’, categoría 2 (frutos molestado pequeño) de la campaña 2008, con grosor de 12 µm y (**c**) ‘Manzanilla de Sevilla’ de la campaña 2009, tras 24 horas desde el impacto y con un grosor de 12 µm. En todos los cortes se pueden visualizar que las células modificadas de la zona dañada por el golpe (*molestado no inducido* e *inducido*, respectivamente) no llegaban a afectar a la epidermis (....→), sino que se encontraban siempre debajo de esta hacia el interior de los cortes (→). .... 166
- Figura 51.-** Cortes histológicos de porciones molestadas y no dañadas del genotipo 02-1000 (‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’) de la campaña 2008, categoría 3 (frutos molestado grande) y con un grosor de 18µm: (**a**) se puede apreciar zonas con paredes celulares más delgadas (→), (**b**) detalle de la pérdida de grosor (→) de la pared celular y (**c**) corte histológico de una zona no dañada. .... 167

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 52.-** Porción molestada del genotipo 02-1000 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Gordal Sevillana') con categoría 2 (frutos molestado pequeño) incluida en el molde individual de parafina (**a**) y su correspondiente corte histológico (**b**). En este último, se pudo apreciar zonas con pérdida de grosor en las paredes celulares (→) fuera de la zona molestada (coloración más intensa) provocada por el golpe (*molestado no inducido*). 168

**Figura 53.-** Cortes histológicos del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') con categoría 2 (frutos molestado pequeño) (**a**) y de 'Manzanilla de Sevilla' con categoría 2 (**b**) y 1 (**c**) (frutos molestado pequeño y frutos molestado muy pequeño, respectivamente) de la campaña 2008. En (**a**) se puede apreciar que el daño histológico (pérdida de grosor) (→) es mucho mayor que la categoría visual asignada. En (**b**) y (**c**) se puede apreciar que el daño histológico (pérdida de grosor) (→) coincide con la categoría visual asignada. .... 175

### Capítulo 2.2.-

**Figura 54.-** Plantación de olivos situada en una finca comercial de La Carlota, Córdoba. .... 178

**Figura 55.-** Proceso desde la recogida manual en campo de los frutos, hasta su fijación en FAE, antes del proceso histológico: (**a**) recogida manual de las aceitunas; (**b**) frutos pesados en campo; (**c**) caída de los frutos desde una altura de un metro, sobre una caja de plástico con un fondo de madera; (**d**) fotografías de 'Manzanilla de Sevilla', después de 4 horas del impacto; (**e**) fotografías de 'Manzanilla de Sevilla', después de 24 horas del impacto y (**f**) fijación de los frutos en botes de plástico con FAE. .... 179

**Figura 56.-** Cortes de los frutos de 'Manzanilla de Sevilla' (**a**) y 'Hojiblanca' (**b**), tras 24 horas desde el impacto y sumergidos en alcohol etílico (70%). .... 180

**Figura 57.-** Fotografías de las porciones donde se aprecian las diferentes categorías empleadas para determinar el color, que aparecen en las zonas dañadas tras el golpe: categoría 0= sin coloración (**a**); 1= coloración ligera (**b**); 2= coloración media (**c**); 3= coloración intensa (**d**). .... 180

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 58.-** Corte histológico de ‘Manzanilla de Sevilla’ a las 24 horas de recibir el golpe. Se indican los cuatro trapecios en los que se dividió cada muestra, los cinco arcos de circunferencias y el radio total para cada corte: **Z1:** primer arco de circunferencia; **Z3:** segundo arco de circunferencia; **Z5:** tercer arco de circunferencia; **Z7:** cuarto arco de circunferencia; **Z9:** quinto arco de circunferencia; **Z2:** primer trapecio circular; **Z4:** segundo trapecio circular; **Z6:** tercer trapecio circular; **Z8:** cuarto trapecio circular y **RT:** radio total de cada corte histológico (mm). ..... 181

**Figura 59.-** Corte histológico de ‘Manzanilla de Sevilla’ a las 24 horas de recibir el golpe. Se indica cada una de las distancias que se han medido en cada muestra: **D1:** distancia desde el radio total (**RT**) de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha (mm); **D2:** distancia desde el radio total (**RT**) de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la izquierda (mm); **D3:** distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (mm); **D4:** distancia desde el límite del endocarpo hasta el último hueco encontrado (mm); **DT:** distancia lateral total (mm) (**D1+D2**) y **RT:** radio total de cada corte histológico (mm). ..... 182

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 1.1.-

**Tabla 1.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2006**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de genotipos por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-16**, **02-17**, etc.).* 29

**Tabla 2.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2007**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de genotipos por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-16**, **02-17**, etc.; 2004: **04-1383**).*  30

**Tabla 3.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2008**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de árboles por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-16**, **02-17**, etc.; 2004: **04-1294**, **04-1295**, etc.).*  31

**Tabla 4.-** Continuación **campaña 2008**. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-997**, **02-1000**, etc.; 2004: **04-1498**, **04-1533**, etc.; 2005: **05-117**).*  32

**Tabla 5.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2009**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de árboles por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-16**, **02-17**, etc.; 2004: **04-1294**, **04-1295**, etc.).*  33

**Tabla 6.-** Continuación **campaña 2009**. \* *A todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2004: **04-673**, **04-687**, etc.; 2005: **05-573**, **05-585**, etc.).*  34

**Tabla 7.-** Descripción de las categorías de aceitunas empleadas para el cálculo del índice de madurez (Ferreira, 1979). 42

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 1.1.-

<b>Tabla 8.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro producción (g/genotipo) para los diferentes años, producción acumulada y * considerando la población de datos de todos los años. ....	48
<b>Tabla 9.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) por cosecha para el parámetro producción (g/genotipo). ....	49
<b>Tabla 10.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro peso del fruto (g) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	51
<b>Tabla 11.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro relación pulpa-hueso para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	53
<b>Tabla 12.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro longitud del fruto (mm) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	55
<b>Tabla 13.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro anchura del fruto (mm) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	57
<b>Tabla 14.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de forma del fruto para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	59
<b>Tabla 15.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro longitud del hueso (mm) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	61
<b>Tabla 16.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro anchura del hueso (mm) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 1.1.-

<b>Tabla 17.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de forma del hueso para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	65
<b>Tabla 18.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de madurez para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	67
<b>Tabla 19.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro textura de la pulpa (KN/100g) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	69
<b>Tabla 20.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro rendimiento graso sobre peso fresco (%) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	71
<b>Tabla 21.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro rendimiento graso sobre peso seco (%) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	72
<b>Tabla 22.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro humedad del fruto (%) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	74
<b>Tabla 23.-</b> Porcentaje de la varianza entre genotipo, año (2006, 2007 y 2008) y residual para los parámetros: producción (g/genotipo) ( <b>PROD</b> ), peso del fruto (g) ( <b>PF</b> ), relación pulpa-hueso ( <b>P/H</b> ), longitud del fruto (mm) ( <b>LF</b> ), anchura del fruto (mm) ( <b>AF</b> ), índice de forma del fruto ( <b>IFF</b> ), longitud del hueso (mm) ( <b>LH</b> ), anchura del hueso (mm) ( <b>AH</b> ), índice de forma del hueso ( <b>IFH</b> ), índice de madurez ( <b>IM</b> ), textura de la pulpa (KN/100g) ( <b>TEX</b> ), rendimiento graso sobre peso fresco (%) ( <b>RTO F</b> ), rendimiento graso sobre peso seco (%) ( <b>RTO S</b> ) y humedad del fruto (%) ( <b>HUM</b> ). Para este análisis se ha considerado sólo aquellos genotipos que se repiten en los tres años ( <b>Diseño equilibrado</b> ). ns: no significativo; * significativo $P \leq 0,05$ , *** significativo $P \leq 0,001$ . ....	76

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 1.1.-

**Tabla 24.-** Comparación de medias entre los distintos años (2006, 2007 y 2008) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). *Para este análisis se ha considerado sólo aquellos genotipos que se repiten en los tres años (Diseño equilibrado). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ )*..... 80

**Tabla 25.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**) y relación pulpa-hueso (**P/H**) por cruzamiento: **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M:** ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre:** ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT:** ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M:** ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre:** ‘Gordal Libre’. **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado)*. ..... 83

**Tabla 26.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**) e índice de forma del fruto (**IFF**) por cruzamiento: **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M:** ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre:** ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT:** ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M:** ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre:** ‘Gordal Libre’. **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado)*. ..... 85



## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 1.1.-

**Tabla 27.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**) e índice de madurez (**IM**) por cruzamiento: **A x M**: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M**: ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre**: ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT**: ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M**: ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre**: ‘Gordal Libre’. **Frec**: Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado).* ..... 87

**Tabla 28.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**) por cruzamiento: **A x M**: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M**: ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre**: ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT**: ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M**: ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre**: ‘Gordal Libre’. **Frec**: Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado).* ..... 89

**Tabla 29.-** Comparación de medias entre los cruzamientos (**A x M** y **M x A**) y años (2007 y 2008) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**) y longitud del hueso (mm) (**LH**). **Frec**: Frecuencia. **A x M**: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **M x A**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’. *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2007 y 2008) (Diseño equilibrado). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 91

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 1.1.-

- Tabla 30.-** Comparación de medias entre los cruzamientos (**A x M** y **M x A**) y años (2007 y 2008) para los parámetros: anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). **Frec:** Frecuencia. **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’. *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2007 y 2008) (Diseño equilibrado). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).*..... 91
- Tabla 31.-** Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**) y relación pulpa-hueso (**P/H**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec: Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 94*
- Tabla 32.-** Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**) e índice de forma del fruto (**IFF**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec: Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 94*
- Tabla 33.-** Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**) e índice de madurez (**IM**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec: Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 95*
- Tabla 34.-** Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec: Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).*..... 95*

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 1.1.-

**Tabla 35.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**) y relación pulpa-hueso (**P/H**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec:* Frecuencia y **CV** (%): Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 97

**Tabla 36.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**) e índice de forma del fruto (**IFF**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec:* Frecuencia y **CV** (%): Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 97

**Tabla 37.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**) e índice de madurez (**IM**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec:* Frecuencia y **CV** (%): Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 98

**Tabla 38.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec:* Frecuencia y **CV** (%): Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 98

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 1.2.-

**Tabla 39.-** Correlaciones de Pearson (**r**) encontradas entre los diferentes parámetros evaluados para todos los genotipos estudiados: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**), humedad del fruto (%) (**HUM**) y textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**). Para aquellas correlaciones más significativas se indica en color rosa los valores comprendidos entre 0,40 y 0,50, en naranja los valores comprendidos entre 0,50 y 0,70 y en verde los valores superiores a 0,70. Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). *ns*: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ ..... 119

**Tabla 40.-** Principales correlaciones de Pearson (**r**) encontradas entre primera-segunda cosecha, primera-tercera cosecha, segunda-tercera cosecha, para los diferentes parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**), humedad del fruto (%) (**HUM**) y textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**). Para este análisis se ha considerado la primera, segunda y tercera cosecha de cada genotipo estudiado. *ns*: no significativo, \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ ..... 124

### Capítulo 2.1.-

**Tabla 41.-** Relación de muestras analizadas: se incluyen tanto nuevos genotipos del programa de mejora de la Universidad de Sevilla obtenidos por cruzamientos, como variedades progenitoras..... 136

**Tabla 42.-** Composición (% en volumen) de las soluciones utilizadas en la deshidratación para los frutos frescos (sin aderezar) de la campaña 2009 y genotipos y variedades progenitoras aderezados de la campaña 2008 (Berlyn y Miksche, 1976). . 142

**Tabla 43.-** Secuencia utilizada en la deshidratación de los frutos aderezados, procedentes de los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. .... 144

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 2.1.-

<b>Tabla 44.-</b> Secuencia utilizada en la deshidratación de los frutos frescos (sin aderezar), procedentes de las variedades de la campaña 2009.....	144
<b>Tabla 45.-</b> Secuencia utilizada en la infiltración e inclusión en parafina, para los genotipos y variedades progenitoras aderezadas de la campaña 2008 y para los frutos frescos (sin aderezar) de la campaña 2009. ....	145
<b>Tabla 46.-</b> Valores medios e intervalos de confianza de la incidencia del <i>molestado inducido</i> antes del proceso de aderezo, para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. ....	171
<b>Tabla 47.-</b> Valores medios e intervalos de confianza de la incidencia del <i>molestado no inducido</i> después del proceso de aderezo, para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. ....	172
<b>Tabla 48.-</b> Grupos homogéneos según índice de molestado, establecidos mediante tablas de contingencia, antes del proceso del aderezo para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. <i>*Genotipos con la misma letra, forman grupos homogéneos según tablas de contingencias.</i> ....	174
<b>Tabla 49.-</b> Grupos homogéneos según índice de molestado establecidos mediante tablas de contingencia, después del proceso del aderezo para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. <i>*Genotipos con la misma letra, forman grupos homogéneos según tablas de contingencias.</i> ....	174

### Capítulo 2.2.-

<b>Tabla 50.-</b> ANOVA de la intensidad de color, observada visualmente, que aparece después del golpe, según diferentes categorías. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): <b>Color:</b> 0= sin coloración; 1= coloración ligera; 2= coloración media; 3= coloración intensa. <b>ns:</b> no significativo. ....	183
<b>Tabla 51.-</b> ANOVA del área de las zonas dañadas que aparecen después del golpe. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): <b>AT:</b> área total de la zona dañada (mm <sup>2</sup> ); <b>AO:</b> área con mayor intensidad de daño (mm <sup>2</sup> ). <b>ns:</b> no significativo, * significativo $P \leq 0,05$ , **** significativo $P \leq 0,0001$ . ....	184

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 2.2.-

**Tabla 52.-** ANOVA del área de la zona dañada. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca'), a las 4 horas del impacto: **AT**: área total de la zona dañada ( $\text{mm}^2$ ) y **AO**: área con mayor intensidad de daño ( $\text{mm}^2$ ). Diferencia significativa  $P \leq 0,01$  cuando no coinciden la letra (color rojo) que sigue a las medias. .... 185

**Tabla 53.-** ANOVA del área de la zona dañada. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca'), a las 24 horas del impacto: **AT**: área total de la zona dañada ( $\text{mm}^2$ ) y **AO**: área con mayor intensidad de daño ( $\text{mm}^2$ ). **ns**: no significativo cuando si coinciden la letra (color azul) que sigue a las medias. .... 185

**Tabla 54.-** ANOVA del número de huecos que entrecruzan los arcos de circunferencia, con los se delimita cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **H<sub>Z3</sub>**: número de huecos que entrecruzan el segundo arco de circunferencia (**Z3**); **H<sub>Z5</sub>**: número de huecos que entrecruzan el tercer arco de circunferencia (**Z5**); **H<sub>Z7</sub>**: número de huecos que entrecruzan el cuarto arco de circunferencia (**Z7**); **H<sub>Z9</sub>**: número de huecos que entrecruzan el quinto arco de circunferencia (**Z9**); **H<sub>Z2</sub>**: número de huecos encontrados en el primer trapecio circular (**Z2**); **H<sub>Z4</sub>**: número de huecos encontrados en el segundo trapecio circular (**Z4**); **H<sub>Z6</sub>**: número de huecos encontrados en el tercero trapecio circular (**Z6**) y **H<sub>Z8</sub>**: número de huecos encontrados en el cuarto trapecio circular (**Z8**). **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ , \*\*\*\* significativo  $P \leq 0,0001$ . .... 187

**Tabla 55.-** ANOVA del número de huecos encontrados en la mitad superior e inferior y el porcentaje de huecos para cada una de ellas y para cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **H<sub>ZT</sub>**: número total de huecos encontrados en cada corte histológico (**ZT**); **H<sub>50</sub>**: número de huecos encontrados en la mitad superior ( $H_{Z1}+H_{Z2}+H_{Z3}+H_{Z4}+H_{Z5}$ ), para cada corte histológico; **H<sub>75</sub>**: número de huecos encontrados en la mitad inferior ( $H_{Z6}+H_{Z7}+H_{Z8}+H_{Z9}$ ), para cada corte histológico; **PH<sub>50</sub>**: porcentaje del número de huecos encontrados en la mitad superior, para cada corte histológico. **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\* significativo  $P \leq 0,0001$ ..... 189

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 2.2.-

**Tabla 56.-** ANOVA de las distancias medidas para cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **D1**: distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha (mm); **D2**: distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la izquierda (mm); **D3**: distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (mm); **D4**: distancia desde el límite del endocarpo hasta el último hueco encontrado (mm); **DT**: distancia lateral total (mm) (D1+D2). **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ . .. 191

## RESUMEN

---

La aceituna de mesa es un producto tradicional en la Cuenca Mediterránea y emblemático de Andalucía. En olivar de verdeo, a diferencia del de aceite, se emplean un reducido número de variedades. Los nuevos sistemas intensivos de cultivo y el avance producido en los últimos años hacia una nueva Olivicultura, hacen que las variedades tradicionales presenten problemas de tipo agronómico o industrial. En el año 2003 se inició en la Universidad de Sevilla, en colaboración con el IFAPA, un programa de mejora genética orientado a la obtención de nuevas variedades de aceituna de mesa. Desde entonces más de 2.000 genotipos procedentes de 22 cruzamientos se han establecido en campo y se han ido evaluando conforme han ido fructificando. Recientemente, se han propagado las 60 primeras preselecciones del programa. La presente tesis se enmarca dentro del mencionado programa y se ha centrado en la primera fase de evaluación de progenies.

La importancia de los aspectos morfológicos, propios de cualquier fruto de mesa, es clave en la obtención de nuevas variedades. A lo largo de cuatro campañas, se han evaluado parámetros de calidad relacionados con el fruto (*producción, peso, longitud, anchura e índice de forma de fruto y de hueso, relación pulpa-hueso, índice de madurez, humedad del fruto, rendimiento graso y textura de la pulpa*) en 407 nuevos genotipos. La *selección indirecta* de genotipos atendiendo al *peso del fruto*, permite reducir a dos el número de caracteres que se evalúan rutinariamente en la primera fase del programa, *peso de fruto y rendimiento graso*, optimizando el tiempo y los recursos disponibles en el mismo. Las altas correlaciones entre parámetros y la consistencia entre cosechas, facilita una *selección temprana* para determinados parámetros del fruto. Se ha logrado establecer para cada uno de ellos el *tiempo mínimo para la selección*. En algunos (*peso de fruto, relación pulpa-hueso y rendimiento graso*), sería suficiente con un año de evaluación.

Los daños ocasionados en los frutos por golpes durante la recolección (“molestado”), son considerados un factor limitante en aceituna de mesa. La metodología histológica puesta a punto en este trabajo para analizar el molestado en fruto fresco, revela que ‘Manzanilla de Sevilla’ es más susceptible al molestado que ‘Hojiblanca’. Estos daños ocasionan manchas superficiales, roturas de tejidos, pérdida de grosor de la pared celular y aumento de coloración en la zona del mesocarpo dañada, que aumentan con el tiempo. La cuantificación de ciertos parámetros, relacionados con las rupturas celulares en las zonas dañadas, pueden ser utilizados como *criterios de selección* dentro del programa. Esto permitiría estimar la susceptibilidad al molestado de un determinado genotipo y/o cultivar.



## I.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



# ÍNDICE

---

<b>I.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.- .....</b>	<b>1</b>
<b>I.1.- El cultivo del olivo: origen y expansión.- .....</b>	<b>1</b>
<b>I.2.- El olivar de mesa.-.....</b>	<b>3</b>
<b>I.3.- Mejora genética del olivo, con especial referencia a la aceituna de mesa.- ...</b>	<b>5</b>
I.3.1.- Programas de mejora.-.....	6
I.3.2.- Etapas en la mejora genética del olivo.- .....	8
I.3.2.1.- Generación de nuevo material.-.....	8
I.3.2.2.- Progenies.- .....	9
I.3.2.3.- Preselecciones.- .....	9
I.3.2.4.- Selecciones avanzadas.- .....	11
<b>I.4.- Estrategias para aumentar la eficacia en programas de mejora de olivo.- .</b>	<b>11</b>
I.4.1.- Selección precoz.- .....	11
I.4.2.- Selección indirecta.- .....	12
I.4.3.- Tiempo mínimo de selección.- .....	13
<b>I.5.- La calidad en aceituna de mesa.-.....</b>	<b>14</b>
I.5.1.- Parámetros de calidad.- .....	15
I.5.2.- El fenómeno de molestado en aceituna de mesa.- .....	16
I.5.2.1.- Evaluación de daños similares en otros frutos.-.....	18
I.5.2.2.- Evaluación del molestado en aceituna de mesa.- .....	19
I.5.2.3.- Implicaciones del molestado en las células y tejidos del fruto.- .....	21

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura 1.-</b> Ilustración del poeta griego Oppiano, donde se aprecia en la parte superior izquierda el vareo y la recogida de aceitunas. Biblioteca Marciana, Venecia (Italia) (en Jiménez y De Miguel, 2008).....	2
<b>Figura 2.-</b> Difusión del cultivo del olivo en la Cuenca Mediterránea (Rallo, 2005).....	2
<b>Figura 3.-</b> Principales países productores de aceituna de mesa con indicación del porcentaje sobre la producción mundial (COI, 2011). ....	4
<b>Figura 4.-</b> Fases de un programa clásico de mejora genética en olivo (Rallo <i>et al.</i> , 2011b).....	10

## **I.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.-**

### **I.1.- El cultivo del olivo: origen y expansión.-**

El olivo se incluye en la familia de las oleáceas (*Oleaceae*), que engloba a más de 29 géneros con 600 especies, y está ampliamente distribuida por las regiones templadas y tropicales. Pertenece al género *Olea*, especie *Olea europaea*, que comprende todos los olivos tanto cultivados como acebuches u olivos silvestres (Rapoport, 2008).

Existen distintas hipótesis sobre el origen de su cultivo. La más extendida lo sitúa al este del Mediterráneo (Loukas y Krimbas, 1983; Zohary y Spiegel-Roy, 1975). Otros autores, sin embargo, prefieren hablar de simultaneidad al referirse al origen de este cultivo. Por un lado, la amplia zona al este del Mediterráneo (Próximo Oriente) y la otra al oeste (El Magreb), donde la vida sedentaria asentó la cultura agrícola.

Las primeras referencias del cultivo del olivo se localizan en Siria e Irán. Los primitivos molinos de aceite hallados al sur de Jordania, son los testimonios más antiguos que evidencian el comienzo de su aprovechamiento agrícola (Ben-Tor, 1992). Al norte del Mar Muerto han aparecido huesos de aceitunas carbonizados que datan de esta época (3700-3500 a.C.) (Zohary y Spiegel-Roy, 1975). Otras fuentes sugieren que su domesticación se produjo entre el 5700 y el 5500 a.C. (Zohary y Hopf, 1994).

El inicio del cultivo parece que surgió con el aprendizaje, por parte del hombre, de la clonación o multiplicación asexual (Rallo, 2005). La diversidad de cultivares en todos los países olivareros sugiere que la selección local de individuos sobresalientes y su clonación han sido los procedimientos originarios de las actuales variedades (Bartolini *et al.*, 1998). Estudios de variabilidad molecular en cultivares de olivo de diferentes procedencias, sostienen esta hipótesis (Belaj *et al.*, 2002; Besnard *et al.*, 2001).

Griegos y fenicios, transmitieron además de su costumbres el cultivo del olivo (Bartolini *et al.*, 2002) (Figura 1). Durante la colonización del Mediterráneo (600 a.C.), se extendió desde el extremo oriental hacia el oeste, a lo largo de sus dos orillas (Rallo, 2005) (Figura 2).

En la Península Ibérica se han localizado restos vegetales que datan del 6000-5500 a.C. (Muñoz-Díez *et al.*, 2004). El hallazgo de huesos intactos en Antequera (Málaga), procedentes de yacimientos de la época romana atestiguan que ciertas variedades actualmente cultivadas como ‘Hojiblanca’, ya eran importantes (Barranco *et al.*, 2007).

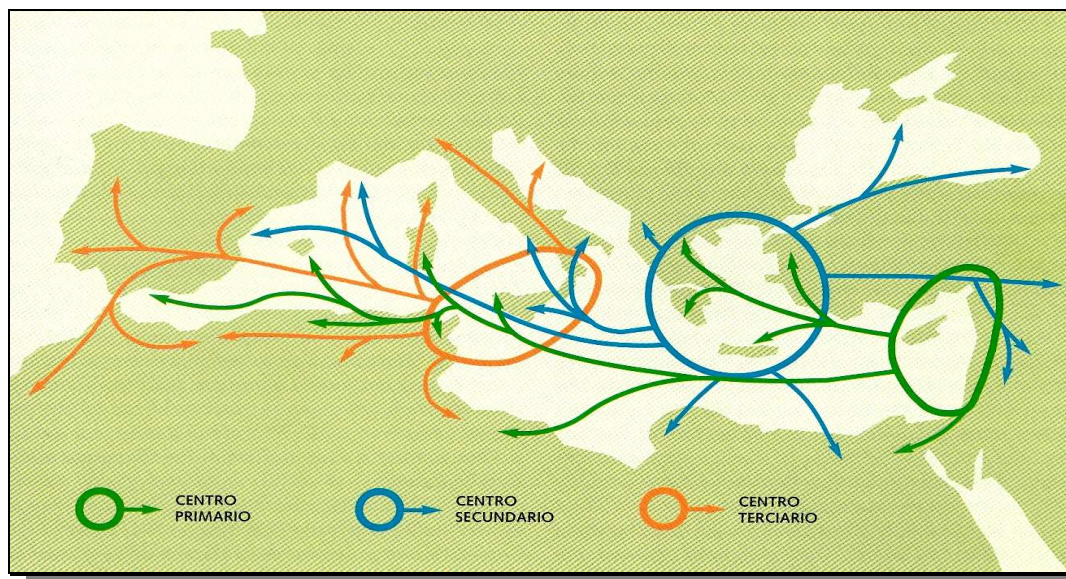
Posteriormente, la Olivicultura se desarrolló considerablemente durante los ocho siglos de civilización hispano-árabe, y de un modo particular en el valle del Guadalquivir. Las palabras aceite, aceituna o acebuche son de origen árabe, ya que provienen de “*zait*” (aceite en árabe) (Bartolini *et al.*, 2002).



**Figura 1.-** Ilustración del poeta griego Oppiano, donde se aprecia en la parte superior izquierda el vareo y la recogida de aceitunas. Biblioteca Marciana, Venecia (Italia) (en Jiménez y De Miguel, 2008).



**Figura 2.-** Difusión del cultivo del olivo en la Cuenca Mediterránea (Rallo, 2005).



Las aceitunas, junto con el aceite, han sido siempre alimentos fundamentales en la dieta Mediterránea, existiendo evidencias desde el siglo III a.C. En concreto, las aceitunas estaban consideradas como aperitivas y astringentes ya que facilitaban la digestión (Rejano y Garrido, 2008).

A medida que el cultivo del olivo se extendía, en los países oleícolas de la Cuenca Mediterránea, estas también lo hacían, estando consideradas como un producto tradicional (Fernández-Díez *et al.*, 1985). Ya Columela (42 a.C.), en su libro *De Re Rustica*, mencionaba las diferentes formas de adobar las aceitunas.

Con el descubrimiento de América (1492) el olivo se extiende a este continente, difundiéndose las formas de aprovechar sus frutos tanto para la extracción de aceite como para el consumo humano. El importante comercio de aceite con el Nuevo Mundo consolidó durante varios siglos la importancia del olivar en el bajo Guadalquivir y en las campañas del que fuera Reino Taifa de Sevilla.

A partir del siglo XVI se comienza a utilizar el término variedades, siendo el castellano Alfonso de Herrera, el primero en mencionar “tipos” de aceitunas: *“las gordas para el consumo en verde, que necesita tierras gruesas y calientes; las carnatillo para aceite, a las que se le cae mucho la aceituna”* (Cubero, 1993). A principios del siglo XIX los emigrantes italianos llevaron consigo el olivo hasta Australia, extendiéndose por los cinco continentes.

A inicios del siglo XX la producción de aceitunas de mesa tenía ya una cierta especialización: Grecia con aceitunas negras naturales en salmuera y España con aceitunas tipo verdes (Garrido-Fernández, 2011). California se incorporó a esta tradición, desarrollando un nuevo proceso de elaboración por oxidación que denominaron “ripe olives” o aceitunas estilo californiano (Connell, 1994).

En nuestros días, el cultivo del olivo ocupa miles de hectáreas en numerosas regiones del mediterráneo, constituyendo parte esencial de los valores ecológicos y paisajísticos. Actualmente, se cultiva también en Sudáfrica, China y Japón (Civantos, 2008).

## **I.2.- El olivar de mesa.-**

Según los datos publicados por el Consejo Oleícola Internacional (COI, 2011), la superficie cultivada de olivo en el mundo alcanzó aproximadamente los 10,5 millones de hectáreas en 2010, las cuales están en su mayoría localizadas (> 96%) en la Cuenca Mediterránea. El 78% de esta superficie se encuentra en secano y el 22% en regadío.

El sector de la aceituna de mesa es de gran importancia para la industria agroalimentaria nacional, debido a su volumen de producción, transformación, comercialización y exportación. Su importancia se refleja en los empleos directos que genera (más de 8.000 empleos directos y más de seis millones de jornales por la recolección y el cultivo del olivo), además de los generados por empresas y fábricas auxiliares (ASEMESA, 2011).

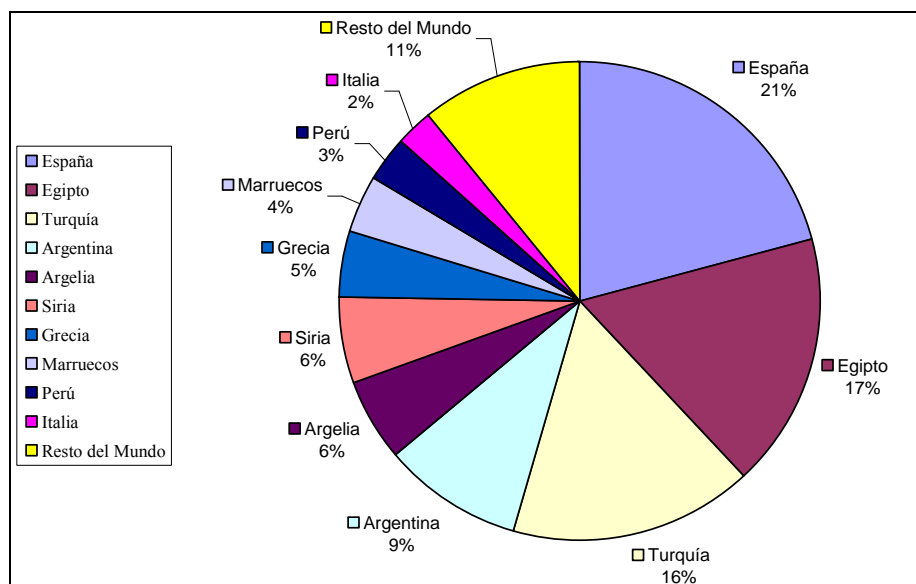
Según datos publicados para la campaña 2010/2011 por el MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medioambiente, 2011), en España se cultivan 2.475.466 ha, de las cuales 166.006 ha (6,71%) son de aceituna de mesa. De la superficie dedicada a la aceituna de verdeo, el 71,33% está en secano y el resto en regadío. A su vez, 101.290 ha se encuentran en Andalucía (61,01%, respecto al total nacional), siendo esta

la Comunidad Autónoma la que presenta mayor superficie destinada al cultivo de la aceituna de mesa. Destaca la provincia de Sevilla, como la primera provincia andaluza en superficie y producción dedicada al olivar de verdeo (MAGRAMA, 2011).

A diferencia del olivar de aceite, sólo un reducido grupo de variedades se cultiva para la industria de mesa. Tres cultivares: ‘Manzanilla de Sevilla’, ‘Hojiblanca’ y ‘Gordal Sevillana’, ocupan casi el 89% de la superficie total de las explotaciones andaluzas (CAP, 2010).

Según datos del Consejo Oleícola Internacional (COI, 2011) la producción mundial de aceituna de mesa para la campaña 2009/2010 se ha situado en 2.369.000 t, de las cuales 675.000 t corresponden a la Unión Europea. Los datos previstos para la campaña 2011/2012 son de 2.565.000 t y 667.500 t, respectivamente. España es el principal productor de aceituna de mesa del mundo con 492.600 t, seguido de Egipto (409.000 t), Turquía (390.000 t) y Argentina (220.000 t). Esto supone el 21%, 17%, 16% y 9% de la producción mundial, respectivamente (Figura 3).

**Figura 3.-** Principales países productores de aceituna de mesa con indicación del porcentaje sobre la producción mundial (COI, 2011).



Andalucía ocupa un lugar muy importante respecto a la producción nacional de aceituna de mesa. La provincia con mayor superficie y producción total (secano y regadío) es Sevilla (84.573 ha y 357.416 t), seguida de Málaga (6.232 ha y 17.297 t) y Córdoba (3.925 ha y 16.710 t). Por el contrario, es la provincia de Jaén la que destaca por su rendimiento (6.000 kg/ha para regadío), seguida de Granada (5.964 kg/ha para regadío) y Córdoba (5.000 kg/ha para regadío) (MAGRAMA, 2011).



Por otro lado, las aceitunas de mesa son muy apreciadas por los consumidores por su sabor, color y textura. El consumo de aceituna a nivel mundial alcanzó 2.199.000 t en la campaña 2009/2010 (COI, 2011). Egipto es el primer consumidor (340.000 t) seguido de Turquía (260.000 t) y Estados Unidos (203.000 t). En España el consumo es alto, ocupando el sexto lugar a nivel mundial, con 107.900 t (4,90%), aunque en los últimos años presenta una tendencia decreciente.

Según datos de la AAO (Agencia para el Aceite de Oliva) en la campaña 2010/2011 las empresas dedicadas al entamado fueron 398 y 245 correspondieron a industrias del envasado, perteneciendo más de la mitad a Andalucía y Extremadura.

España exporta a más de 120 países, siendo el principal exportador mundial de aceituna de mesa, con un 30% del comercio mundial, seguido por Egipto, Grecia y Argentina, alcanzando en el año 2011 280.000 t (peso neto escurrido). El principal destinatario es Estados Unidos (24%), seguido de Italia, Rusia y Alemania. El resto de países que completan las diez primeras posiciones son, por este orden, Francia, Arabia Saudita, Portugal, Reino Unido, Canadá y Polonia (ASEMESA, 2011). El 81% de la producción exportada procede en su mayoría de empresas andaluzas, con sede mayoritariamente en la provincia de Sevilla (Rallo *et al.*, 2012).

Aunque la aceituna española tiene muy buena imagen en el exterior, la cuota de mercado en los principales destinos se está viendo afectada por otros países (Marrueco, México, Argentina y Turquía). Esto se debe a que la mano de obra es significativamente más barata en dichos países, así como la incorporación de nuevos productores y exportadores al mercado internacional (Líbano, Egipto y Siria) (Rallo *et al.*, 2012).

### **I.3.- Mejora genética del olivo, con especial referencia a la aceituna de mesa.-**

En los últimos años, el cultivo del olivo está experimentando profundos cambios debido a la transformación de las plantaciones tradicionales en sistemas más intensivos (León *et al.*, 2005b). Esta intensificación se manifiesta con la aparición de nuevos sistemas de cultivo de alta densidad (León *et al.*, 2007b), donde se reduce el marco de plantación, se incorpora el riego, la recolección mecanizada y el empleo de nuevos sistemas de manejo del suelo.

Todos estos cambios se están aplicando además, en plantaciones con variedades seleccionadas hace siglos de manera intuitiva. Especialmente relevante es el caso de la aceituna de mesa, ya que la mayoría de las plantaciones se centran en sólo tres



variedades ‘Manzanilla de Sevilla’, ‘Hojiblanca’ y ‘Gordal Sevillana’. ‘Manzanilla Cacereña’ o ‘Aloreña’, tienen una importancia relativa mucho menor (Barranco, 2008). Las principales limitaciones que presentan todas estas variedades, además de su antigüedad (Muñoz-Díez *et al.*, 2009), es la dificultad de adaptación a la recolección mecanizada y su susceptibilidad a plagas y enfermedades, que dificulta la implantación de nuevas tendencias de cultivo. Es necesaria la búsqueda de variedades adaptadas a las nuevas exigencias de cultivo que aumenten la oferta varietal disponible, tanto de aceite como de mesa (De la Rosa y León, 2009).

Los cambios producidos en este cultivo durante las últimas décadas han propiciado que en España y otros países, exista la necesidad de producir nuevas variedades mediante programas de mejora (De la Rosa y León, 2009). En definitiva, la mejora genética por medios convencionales y biotecnológicos es la herramienta más precisa para atender a esta demanda (Rallo y Muñoz-Díez, 2010).

### **I.3.1.- Programas de mejora.-**

A pesar de la gran importancia económica y social del cultivo del olivo en el área Mediterránea, han sido escasos los avances en su mejora genética si lo comparamos con otras especies. Así por ejemplo en manzano, sólo en la Unión Europea, existen más de 40 programas con casi 600 nuevos cultivares (Sansavini *et al.*, 2005).

Las principales causas de este retraso son el escaso conocimiento sobre la tecnología a aplicar y el arraigo, por parte de los olivicultores, en la utilización de variedades locales y sistemas tradicionales de manejo (Rallo *et al.*, 2011b).

Los primeros programas de mejora por cruzamiento en olivo comenzaron en Israel (Lavee, 1990) e Italia (Bellini *et al.*, 2002a), entre 1960 y 1971. Posteriormente, se han desarrollado otros en Francia (1986), España (1991), Marruecos (1994), Túnez (1994), Turquía (1994), Grecia (1996), Australia (1997), Irán (1999) y Portugal (2002) (De la Rosa y León, 2009). La mayoría están basados en los métodos clásicos de mejora por cruzamiento y selección de la descendencia, a excepción del programa australiano, basado en material asilvestrado (Sedgley y Wirthensohn, 2000). Estos programas están orientados, principalmente, a la obtención de variedades de aceite, siendo muy pocos los que buscan cultivares de mesa o doble aptitud (Rallo *et al.*, 2011a). Sólo los programas de Israel, Italia y España, con un total de 14 nuevos cultivares, han logrado obtener hasta la fecha nuevas variedades (De la Rosa y León, 2009).

En España, el primer programa de mejora genética de olivo se inició en 1991, por iniciativa de la Universidad de Córdoba, en colaboración con el IFAPA (Rallo, 1995).

Basándose en cruzamientos intra-específicos para obtener nuevas variedades de aceite, han incluido objetivos *agronómicos* (productividad, precocidad, rendimiento graso, época de maduración, aptitud a la recolección mecanizada, calidad del aceite, resistencia enfermedades y condiciones limitantes) y *metodológicos* (acortamiento del periodo juvenil y el uso de marcadores moleculares). No obstante, para dar respuesta a las nuevas demandas del sector se han incluido en los últimos años otros nuevos: resistencia a verticilosis (*Verticillium dahliae* Kleb), reducido vigor y resistencia a sequía (León *et al.*, 2011b). Actualmente, están en proceso de evaluación más de 10.000 genotipos procedentes de 83 cruzamientos diferentes. Se ha iniciado la evaluación de más de 300 preselecciones y se están ensayando 33 selecciones avanzadas (Rallo *et al.*, 2011a).

El resultado más relevante de este programa es, sin duda, la obtención de la variedad ‘Sikitita’ (Rallo *et al.*, 2008a). Ha sido seleccionada y registrada en la Unión Europea y en otros nueve países (UCO, 2012), para plantaciones en seto, al presentar menor vigor que ‘Arbequina’ (variedad estándar en este tipo de plantaciones), precocidad de fructificación y porte compacto y llorón. Nuevos descendientes obtenidos de cruzamientos entre ‘Arbosana’ y ‘Sikitita’ han presentado un vigor más reducido que sus progenitores, pudiendo proporcionar en un futuro nuevas variedades adaptadas a plantaciones en seto (Rallo *et al.*, 2011a). Recientemente, once viveros españoles han comenzado su propagación comercial y en el periodo 2009-2011 se ha plantado por primera vez en fincas comerciales.

Investigadores de la Universidad de Sevilla, en colaboración con el IFAPA, iniciaron en 2003 un programa de mejora genética de olivo orientado a la obtención de variedades de aceituna de mesa. Los objetivos marcados por este programa han sido de tipo *agronómico* (reducido vigor, rápida entrada en producción, resistencia a *Bactrocera oleae* Gmel. (mosca del olivo)). Para ello, se han evaluado desde 2006 *parámetros morfológicos* del fruto (peso, volumen, longitud, anchura e índice de forma de fruto y de hueso, relación pulpa-hueso y textura de la pulpa). Se han realizado 22 cruzamientos diferentes entre variedades de mesa y de aceite, además de polinizaciones libres. Más de 2.000 genotipos, procedentes de estos cruzamientos, están actualmente establecidos en campo y se están propagando las 60 primeras preselecciones del programa, que pasarán a la siguiente fase de evaluación (Rallo *et al.*, 2011c).

### **I.3.2.- Etapas en la mejora genética del olivo.-**

#### **I.3.2.1.- Generación de nuevo material.-**

El objetivo de un programa de mejora es obtener nuevas variedades que presenten unas determinadas características de interés agronómico, partiendo de progenitores con esos caracteres deseados. Mediante el cruzamiento entre cultivares obtenemos una descendencia en la que se combinan los parámetros de interés presentes en ambos progenitores.

La técnica más empleada en los cruzamientos es el embolsado de ramos fructíferos antes de la floración y su posterior pulverización, en plena floración, con el polen del progenitor masculino (Rallo *et al.*, 2011b). Determinar este estado fenológico es fundamental para obtener resultados óptimos. Sin embargo, pueden darse problemas de contaminación por polen ajeno al cruzamiento, adherido a los ramos antes del embolsado. El olivo es una especie alógama y generalmente autoincompatible. Sin embargo, estudios con marcadores moleculares ponen en duda esta afirmación (Díaz *et al.*, 2007).

Terminada la floración, se retiran las bolsas y, tras la maduración, los frutos se recogen, se deshuesan y se extraen las semillas. Para eliminar la latencia en la germinación, las semillas se desinfectan con fungicida y se estratifican en placas Petri con perlita humedecida a 14 °C, durante 20-45 días. De cada semilla se obtiene un individuo genéticamente distinto al resto de plantas. Ésta segregación genera la variabilidad necesaria para obtener nuevas combinaciones genéticas en forma de nuevos individuos (Barranco *et al.*, 2007). Las plántulas obtenidas se introducen en una cámara de crecimiento a 25 °C en oscuridad, donde se mantienen hasta que presentan dos pares de hojas.

Posteriormente se trasplantan a macetas y se someten a crecimiento forzado en invernadero, con fertirrigación e iluminación artificial durante la noche. Los plantones se entutoran y los brotes anticipados se despuntan cuando alcanzan los 15-20 cm de longitud. Con una altura de 1,00-1,50 m, se llevan a campo tras una breve aclimatación en un umbráculo, durante un par de semanas.

El período juvenil o tiempo que transcurre desde la germinación de la semilla hasta que la planta adquiere la capacidad de florecer es muy prolongado en especies leñosas (Hackett, 1985). En olivo puede durar hasta 15 años en condiciones naturales (Bellini, 1993), lo que representa uno de los principales obstáculos en los programas de mejora de esta especie (Rallo, 1995). León *et al.* (2007a) demostraron que genotipos con un periodo juvenil corto, una vez propagadas vegetativamente, también producen

individuos con un período improductivo corto. Por lo tanto, la longitud de este periodo tiene importancia agronómica en los programas de mejora.

Sólo cuando se supera esta etapa, se puede iniciar la evaluación de la progenie, motivo por el cual existen pocos programas de este tipo, en comparación con otras especies frutales (De la Rosa y León, 2009).

Otro de los obstáculos es el escaso conocimiento de la heredabilidad y el control genético de los principales caracteres considerados en los programas de mejora (Rallo *et al.*, 2011a).

En el programa de mejora de Córdoba, citado anteriormente, se sigue un esquema donde existen tres fases para la evaluación de los genotipos obtenidos por cruzamiento (Rallo *et al.*, 2011b) (Figura 4).

#### I.3.2.2.- Progenies.-

La evaluación agronómica de las *progenies* es la etapa más larga, laboriosa y crítica del programa de mejora (Barranco, 2008). Se maneja un elevado número de genotipos de diferentes cruzamientos, sin repeticiones (un sólo árbol/genotipo). El presente trabajo se encuentra enmarcado en esta fase, donde se han evaluado 14 parámetros morfológicos relacionados con la calidad en aceituna de mesa (Figura 4).

#### I.3.2.3.- Preselecciones.-

En esta fase intermedia se establecen ensayos en campo con repeticiones de los genotipos seleccionados en la fase anterior (*preselecciones*) y propagados vegetativamente. Se evalúan parámetros complejos, generalmente agronómicos y que requieran repeticiones (Figura 4).

**Figura 4.-** Fases de un programa clásico de mejora genética en olivo (Rallo *et al.*, 2011b).



#### I.3.2.4.- Selecciones avanzadas.-

Los genotipos finalmente seleccionados, que constituyen las *selecciones avanzadas*, son incluidos en una red de ensayos, para evaluar la interacción genotipo-ambiente en zonas de posible difusión de estas nuevas variedades (Figura 4). De esta forma, se comprueba si alguno de los genotipos seleccionados puede convertirse en una nueva variedad, pudiendo solicitarse su incorporación al Registro de Variedades Protegidas.

#### I.4.- Estrategias para aumentar la eficacia en programas de mejora de olivo.-

El elevado número de genotipos a evaluar en esta primera fase (*progenie*) y la diversidad de caracteres objeto de estudio, hacen que el proceso de evaluación resulte complejo y requiera mucha mano de obra. Mediante criterios rigurosos y técnicas de *selección temprana y/o indirecta*, se puede reducir drásticamente la población inicial de genotipos en función de los objetivos marcados en el programa. Es importante determinar los parámetros a evaluar, seleccionando aquellos más consistentes, de fácil medición y que requieran el mínimo número de años de evaluación, con el fin de optimizar el tiempo y los recursos disponibles en el programa.

##### I.4.1.- Selección precoz.-

Los criterios empleados para una *selección precoz* en la evaluación de las progenies, debe ser un objetivo destacado en cualquier programa de mejora de olivo (Rallo *et al.*, 2011b). El desarrollo de estos criterios tiene gran relevancia porque acorta la fase de selección y reduce los gastos de mantenimiento en invernadero durante la fase de crecimiento forzado.

Se han establecido protocolos para la reducción del periodo juvenil en olivo con buenos resultados, reduciendo el tiempo hasta la primera floración en 29 meses para los genotipos más precoces (Santos-Antunes *et al.*, 2005). Sin embargo, un alto porcentaje de plantas tardan más en superar la etapa juvenil, comprobándose claramente la influencia de los progenitores en la duración de esta fase.

La identificación y *selección precoz* de genotipos con un periodo juvenil corto mediante la evaluación de altura de la planta y diámetro del tronco antes del transplante definitivo en campo, es otra de las estrategias utilizadas en programas de mejora de olivo para acortar el periodo juvenil.

En este sentido, De la Rosa *et al.* (2006), sugirieron que el 33% de plantas con menor altura podrían ser eliminadas a la salida del invernadero. De esta manera se evitan los

costosos trasplantes (en invernadero y en campo), ya que una alta proporción de ellos tendría un período juvenil largo.

En aceituna de mesa, estudios realizados por Rallo *et al.* (2008b) han permitido emplear con éxito criterios de *selección precoz* en genotipos con corto periodo juvenil. El umbral de eliminación a la salida del invernadero fue efectivo en más de un 40%. Además, en este trabajo se ha reducido aún más el periodo hasta la primera floración, obteniéndose individuos adultos 18 meses después de su germinación. Estos resultados mejoran en 11 meses a los obtenidos por Santos-Antunes *et al.* (2005).

Trabajos publicados posteriormente por Moreno-Alías *et al.* (2010b), concluyen que una altura media de 100 cm en el momento de plantación en campo, proporciona los mejores resultados, obteniéndose más del 80% de plantas adultas cuatro años más tarde. Todos estos estudios muestran que la preselección de genotipos para precocidad de la primera floración se puede lograr en un programa de mejora de olivo.

En otras especies como manzana (Visser *et al.*, 1976) y pera (Bagnara *et al.*, 1994; Zimmerman, 1977), también se han establecido criterios de *selección precoz* para la obtención de progenies con un período juvenil corto.

Para diferenciar entre estado adulto y juvenil, la planta tiene que alcanzar un cierto tamaño. La caracterización e identificación de un *cono de juvenilidad* (Hartmann *et al.*, 2002), puede utilizarse para comprender la transición entre fases, teniendo en cuenta la altura. Recientemente, se han publicado estudios sobre la relación entre el crecimiento de la planta procedente de semilla y el cambio de fase en progenie de olivo para aceite (Moreno-Alías *et al.*, 2010a). En aceituna de mesa, Suárez *et al.* (2011) observaron que árboles con períodos juveniles más largos tienden a florecer por primera vez a una mayor distancia total desde el suelo. La correlación negativa encontrada entre la altura de inserción de la rama y la distancia a la flor a lo largo de la rama, confirma la existencia de este cono, cuya forma dependerá de la precocidad de la primera floración.

#### **I.4.2.- Selección indirecta.-**

El conocimiento de las relaciones entre parámetros es esencial para simplificar los procesos de evaluación. La *selección indirecta* basada en las correlaciones entre los diferentes caracteres, permite reducir el número de parámetros a evaluar y seleccionar aquellos genotipos más interesantes, mejorando así la eficiencia del programa.

Los trabajos sobre *selección indirecta* en parámetros de calidad de aceituna de mesa son aún limitados. Se trata, en todo caso, de evaluaciones realizadas para un reducido número de cruzamientos y genotipos, durante un escaso número de años. Ha sido



estudiada en progenies de un cultivar de aceite y otro de doble aptitud (Fontanazza *et al.*, 1999) y en variedades de aceituna de mesa (Fanizza, 1982), para parámetros morfológicos del fruto. La correlación observada en ambos trabajos entre el peso del fruto y sus medidas (longitud y diámetro), hace posible obtener genotipos con alto peso del fruto, seleccionando por las medidas del mismo.

En programas de olivo para aceite, León *et al.* (2004b) comprobaron que las correlaciones obtenidas entre diferentes caracteres agronómicos, incluyendo componentes del contenido de aceite y ácidos grasos, permiten reducir el número de parámetros evaluables. La correlación entre peso del fruto y relación pulpa-hueso, indica que un aumento en el peso del fruto produciría un incremento proporcionalmente mayor en el peso de la pulpa que en el del hueso.

En otras especies como melocotón, Albuquerque *et al.* (2004) comprobaron que se puede realizar una *selección indirecta* para peso del fruto mediante su diámetro, debido a la alta correlación entre ambos parámetros.

#### **I.4.3.- Tiempo mínimo de selección.-**

Para poder seleccionar los mejores genotipos dentro de un programa de mejora es necesario reducir el número de años de evaluación. La consistencia de los coeficientes de correlación entre campañas permite conocer el *tiempo mínimo* de evaluación necesario para cada uno de los caracteres a estudiar. De esta forma se ahorra tiempo, mano de obra y, por lo tanto, recursos económicos dentro de un programa.

León *et al.* (2004d) comprobaron que para el contenido en aceite existen altos coeficientes de correlación entre campañas, lo que permite estimar los resultados para años sucesivos, en base al primer año de evaluación. De igual forma, para peso del fruto, relación pulpa-hueso y producción, con bajos coeficientes de correlación entre campañas, son necesarios más años de evaluación. Por el contrario, para otros caracteres como relación fuerza de retención-peso del fruto, no se puede realizar una selección temprana a partir del primer año de evaluación (León *et al.*, 2005a).

En estudios comparativos de progenies de olivo, con las correspondientes selecciones avanzadas, De la Rosa *et al.* (2008) observaron una alta correlación significativa para peso del fruto, relación fuerza de retención-peso del fruto y contenido en aceite. Esto indica que la selección eficiente en planta joven puede realizarse tomando sólo el primer año de evaluación agronómica. Por el contrario, la selección para humedad del fruto, fuerza de retención y fecha de madurez se requiere un mayor número de años.



Conclusiones similares fueron publicadas por León *et al.* (2008), para la composición de ácidos grasos.

Estudios recientes en olivos silvestres, realizados por Belaj *et al.* (2011), muestran altas correlaciones significativas entre todos los parámetros morfológicos del fruto, lo que indica la consistencia de los datos y la baja influencia ambiental.

Además de estas tres estrategias (*selección precoz, selección indirecta y tiempo mínimo de selección*), se encuentra la tecnología alternativa NIRS (Near Infrared Spectroscopy). Presenta como ventaja que no es destructiva, requiere escasa preparación de la muestra, no es contaminante y el resultado es inmediato. Se ha utilizado tanto en programas de mejora de olivo de aceite (León, 2012; León *et al.*, 2004a; León *et al.*, 2003), para contenido en aceite, humedad y composición de ácidos grasos, como de mesa (Morales-Sillero *et al.*, 2011). En este último, se han obtenido resultados interesantes para caracteres como el peso del fruto, volumen y anchura del fruto.

#### **I.5.- La calidad en aceituna de mesa.-**

La aceituna de mesa está entre los alimentos vegetales fermentados más importantes producidos en el mundo. Según la normativa cualificada unificada del Consejo Oleícola Internacional (2004), la definición de aceituna de mesa es: “*fruto de variedades determinadas del olivo cultivado, sano, cogido en el estado de madurez adecuado y de calidad tal que, sometido a las preparaciones adecuadas, de un producto de consumo y de buena conservación como mercancía comercial. Estas preparaciones pueden, eventualmente, incluir la adición de diversos productos o aromatizantes de buena calidad alimenticia*”.

El concepto de calidad puede tener diferentes enfoques según las necesidades del consumidor o los objetivos del productor: valor nutricional, apariencia, calidad en el proceso, etc. (Rallo *et al.*, 2011b).

Actualmente, existe una gran demanda de productos de alta calidad que contribuyan a la salud de los consumidores y cumplan sus expectativas. El sector de la aceituna de mesa, no es ajeno a esta situación, presentando grandes perspectivas de futuro como producto saludable muy vinculado a la dieta mediterránea. Frutos bajos en grasa y de mayor calidad van a ser imprescindibles en las futuras presentaciones de aceitunas (Garrido-Fernández, 2011). Por lo tanto, la mejora de la calidad se ha convertido en uno de los principales objetivos de los programas de mejora de olivo (Rallo *et al.*, 2011b).

### I.5.1.- Parámetros de calidad.-

La calidad en aceituna de mesa incluye propiedades morfológicas (aspecto, tamaño, forma, relación pulpa/hueso, textura), nutricionales (ácidos grasos monoinsaturados, compuestos fenólicos, ácidos triterpénicos, vitaminas, etc.) y organolépticas (Norma COI/OT/MO n°1-N° DEC 21/96 de 2008).

El consumo de aceituna de mesa está relacionada directamente con los parámetros morfológicos del fruto: tamaño, forma, relación pulpa-hueso y textura de la pulpa. Las aceitunas más apreciadas para la industria del aderezo son de tamaño medio (3 a 5 gramos) o grande (más de 5 gramos), relación pulpa-hueso elevada (próxima a 6,5:1), color atractivo y facilidad de desprendimiento del hueso, entre otros parámetros (Rallo *et al.*, 2011b). Según (Barranco *et al.*, 2005), para este último, de interés sólo en aceituna de mesa, se establecen dos categorías. ‘Manzanilla de Sevilla’ presenta escasa adherencia entre pulpa y hueso, siendo uno de los factores que influyen en su alta apreciación como aceituna de mesa (Rejano, 1999). Todos estos parámetros se encuentran en gran medida determinados por la variedad y el estado de madurez de la aceituna (Garrido-Fernández *et al.*, 1997).

Las *formas* esféricas y ovales son las más valoradas, aunque también se aceptan las formas alargadas o asimétricas, sobre todo en las presentaciones tradicionales. También es importante considerar el índice de forma del hueso, para aquellas aceitunas que se destinan al deshuesado.

El *tamaño del fruto* es el principal criterio de calidad en la aceituna de mesa. La *relación pulpa-hueso*, que está a su vez relacionada con el tamaño del fruto, es un factor determinante del rendimiento graso, ya que el aceite de la pulpa representa más del 95% del total del fruto (Rallo y Cuevas, 2008). Algunos autores (D'Andria *et al.*, 2004; Lavee *et al.*, 1990), han demostrado el efecto positivo del riego en el tamaño final de la aceituna y en la alta relación pulpa-hueso. Además, la fertilización del olivar puede afectar al balance de crecimiento de mesocarpo y endocarpo, aunque parece que la sincronización del crecimiento de ambos tejidos es independiente de la disponibilidad de nutrientes (Morales-Sillero *et al.*, 2008).

Otro de los parámetros de calidad importantes es la *textura de la pulpa*, muy valorado por el consumidor y la industria, ya que facilita operaciones posteriores a la fermentación como deshuesado y rellenado (Garrido-Fernández *et al.*, 1997). La *textura*, que depende de la variedad, disminuye con el tratamiento de aderezo, por lo que interesa que sea elevada antes de este proceso.

El *color* es también una característica organoléptica muy apreciada por el consumidor. La obtención de un color verde, lo más parecido al fruto recién recogido, es lo que el consumidor tiende a asociar con una mayor “frescura” (Casado *et al.*, 2007). Las aceitunas, para el aderezo ‘estilo sevillano’, se recogen cuando alcanzan un color verde o verde-amarillento. Una vez finalizado el aderezo, se comercializa en diferentes colores (amarillo-verdoso al verde-amarillento), en función del producto final deseado, descartando el color verde oscuro (Sánchez-Gómez *et al.*, 1985).

Las aceitunas poseen además numerosas *propiedades nutricionales*, gracias a su contenido en componentes polifenólicos y ácidos triterpénicos (Brenes, 2010). La concentración de estos últimos, es mayor que en el aceite de oliva y se ve influenciada por la variedad y el tipo de procesamiento al cual se someten (Romero *et al.*, 2010). Se le atribuyen además, ciertas propiedades anticancerígenas (Lupiáñez, 2010).

Las aceitunas además contienen ácidos grasos esenciales, fibra, vitaminas, minerales y otros ingredientes secundarios con propiedades antioxidantes, tocoferoles, carotenoides y clorofilas (López-López *et al.*, 2006).

### **1.5.2.- El fenómeno de molestado en aceituna de mesa.-**

Se denomina “molestado” a la aparición de manchas oscuras en la parte externa del exocarpo de los frutos. Legalmente (Real Decreto sobre la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, circulación y venta de las aceitunas de mesa (1230/2001 del 21 de noviembre de 2001)) a este respecto se establecen los siguientes defectos en los frutos de aceitunas:

- 1.- *Defectos de la epidermis sin afectar a la pulpa.* Manchas y daños superficiales que no penetren en el mesocarpo, así como coloración anormal del fruto. No se consideran como manchas, las dimensiones inferiores a 9 mm<sup>2</sup> siempre que no afecten a la apariencia del fruto.
- 2.- *Defectos de la epidermis afectando a la pulpa.* Manchas que penetran en el mesocarpo con una dimensión superior a 9 mm<sup>2</sup> en la superficie, orificios, cavernas, deformidades que se presentan en el fruto como consecuencia de ataques de insectos, enfermedades criptogámicas, etc.

El molestado suele producirse cuando los frutos sufren algún tipo de daño mecánico o fisiológico, como ocurre durante la recolección, almacenamiento post-cosecha o procesamiento del fruto. En el caso de la aceituna de mesa, estos daños se suelen producir en

la recolección, atenuándose después del proceso de fermentación (Segovia-Bravo *et al.*, 2011).

La apariencia externa de la aceituna es el factor más decisivo en la determinación de la calidad del fruto (Riquelme *et al.*, 2008). Las manchas externas del exocarpo pueden llegar a ser permanentes mermando la calidad final del producto debido a su aspecto desagradable, provocando pérdidas de beneficios y el rechazo por parte del consumidor. De hecho el molestado es considerado actualmente como uno de los factores limitantes en la producción de aceituna de mesa y uno de los aspectos más importantes a considerar para poder implantar la recolección mecanizada a corto plazo en el sector. Esta preocupación se debe a los altos porcentajes de frutos molestados por los golpes que se producen durante la recolección mecanizada, mucho más elevados que con la recolección manual (Castro-García *et al.*, 2009).

El molestado es un fenómeno complejo que, si bien está iniciado por una lesión mecánica, engloba diferentes procesos fisiológicos. Por un lado, como consecuencia de daños mecánicos que provocan la ruptura de la célula, se produce una pérdida de integridad celular. Esta pérdida es similar a la que sucede de forma natural durante los procesos de maduración que se caracterizan, en la mayoría de frutos carnosos, por el reblandecimiento, modificación y degradación de los componentes de la pared celular (Mafra *et al.*, 2006). Este proceso ha sido estudiados en multitud de frutas: manzanas (Percy *et al.*, 1997), kiwis (Redgwell *et al.*, 1991) y albaricoque (Femenia *et al.*, 1998), entre otros. Las pectinas, hemicelulosa y celulosa son los tres grupos de polisacáridos implicados en estos procesos. Existen varios estudios sobre los cambios en hemicelulosa durante la maduración tanto en olivo (Jiménez *et al.*, 2001b) como en otras frutas: melocotón (Hegde y Maness, 1998), fresa (Nogata *et al.*, 1996) y aguacates (Wakabayashi *et al.*, 2000).

Por otro lado, el molestado provoca una reacción de ennegrecimiento en la cual intervienen diferentes enzimas y fenoles y que ha sido ampliamente estudiada en otras frutas: frambuesas (González *et al.*, 2000), fresas (Wesche-Ebeling y Montgomery, 1990), kiwis (Park y Luh, 1985), manzana (Murata *et al.*, 1995), melocotones (Flurkey y Jen, 1980), peras (Wisseman y Montgomery, 1985), plátanos (Yang *et al.*, 2000), uvas (Lamikandra *et al.*, 1992), etc.

Esta reacción de pardeamiento ha sido ampliamente descrita en aceituna de mesa (García-García *et al.*, 2010; Segovia-Bravo *et al.*, 2010; Segovia-Bravo *et al.*, 2009). La Polifenol-oxidasa (PPO), es la principal enzima que causa el oscurecimiento en la epidermis de los frutos de aceituna de mesa (Segovia-Bravo *et al.*, 2007).

Recientemente, se ha evaluado la concentración de polifenoles y enzimas oxidativas en la pulpa de aceitunas, encontrándose una elevada variabilidad en la actividad oxidativa, entre las variedades estudiadas (Ramírez *et al.*, 2012).

Diversas sustancias como ácido cítrico, ascórbico y bisulfito de sodio, disminuyen el molestado, actuando sobre las reacciones fenólicas que produce el pardeamiento. Han sido estudiadas en: peras (Arias *et al.*, 2007), litchis (Jiang *et al.*, 1999), alcachofas (Lattanzio *et al.*, 1989), setas (Golan-Goldhirsh y Whitaker, 1984) y patatas (Limbo y Piergiovanni, 2006).

#### I.5.2.1.- Evaluación de daños similares en otros frutos.-

La mayor parte de los trabajos de evaluación de la susceptibilidad en frutales al daño mecánico se han llevado a cabo en manzana y pera. Recientemente, en manzana se han recopilado diversos trabajos sobre el tema, clasificándolos en función de la temática de los mismos Van Zeebroeck *et al.* (2007b).

La sensibilidad al daño depende de numerosos factores (variedad, tamaño del fruto, índice de madurez, temperatura, fertilización, etc.) tal como apuntan algunos autores en manzana (Bollen, 2005; Grotte *et al.*, 2000). En peras (Berardinelli *et al.*, 2005) la gravedad del daño depende de la altura de caída, energía del impacto, número de impactos, tipo de superficie, tamaño y madurez del fruto.

La mayoría de los trabajos sobre daños en frutas determinan el área y volumen dañado en base a la medición de la zona afectada (anchura, longitud y profundidad), buscando su relación con ciertas propiedades mecánicas, que varían en función de los autores (Blahovec y Paprštejn, 2005; Opara, 2007; Yurtlu y Erdoğan, 2005). La medición se realiza mediante calibres digitales y los parámetros varían según el método de cálculo. Todos ellos tienen en común la aplicación de una energía de impacto conocida, para provocar el daño y así conocer la susceptibilidad al mismo. En manzanas se provoca tras la caída de los frutos desde una altura conocida sobre distintas superficies, realizando las medidas a las 24 horas del golpe (Lu *et al.*, 2010). En melocotones, se realiza el cálculo tras un golpe provocado por un péndulo, con energía y velocidad de impacto controlada (Ahmadi *et al.*, 2010) y en peras, tras comprimir y descomprimir el fruto entre dos platillos con fuerza y velocidad controlada (Blahovec y Paprštejn, 2005). En pera y manzana, Garcia *et al.* (1995) han relacionado la susceptibilidad al daño con las propiedades mecánicas del fruto, especialmente con la textura o firmeza de la pulpa. Dicho trabajo se basa en la medición de la firmeza en función de la resistencia que ofrece la pulpa del fruto (sin piel) a un émbolo, de diámetro y velocidad conocida.

En melocotón, tomate y manzana, se han obtenido modelos estadísticos para estimar el volumen molestado en función de diversos factores (temperatura del fruto, grado de madurez, variedad, energía de impacto, radio de curvatura, efecto del almacenamiento, etc.), provocando a los frutos un daño inducido, mediante un péndulo con una energía conocida (Ahmadi *et al.*, 2010; Van Linden *et al.*, 2006; Van Zeebroeck *et al.*, 2007a). Los modelos estadísticos, una vez ajustados, constituyen un método no destructivo que permite conocer una estimación de los daños.

En manzana, patata y nectarina, Bollen *et al.* (2001) estudiaron la relación entre la energía de impacto y la probabilidad de superar los umbrales comerciales de área dañada. Concluyen que, los modelos obtenidos son más fiables que la medición de áreas o volúmenes dañados.

Con el fin de reducir las pérdidas que provocan estos daños en la industria, es necesario el conocimiento a nivel celular de la morfología de los tejidos afectados. Sin embargo, existen pocos trabajos histológicos y anatómicos sobre estos daños en frutales. En manzanas (Mitsuhashi-Gonzalez *et al.*, 2010) y melocotones (Crisosto *et al.*, 1993) se han llevado a cabo estudios de este tipo, para evaluar la incidencia del daño en el exocarpo y mesocarpo. La metodología empleada en estos trabajos consiste en la utilización de diferentes equipos de microscopía electrónica, capaces de contrastar el aspecto que presentan las zonas dañadas.

#### I.5.2.2.- Evaluación del molestado en aceituna de mesa.-

Son muy escasos los trabajos publicados sobre molestado en aceituna de mesa en comparación con otros frutales. Gran parte de la información que se tiene sobre la susceptibilidad de variedades de mesa al molestado, se ha obtenido de forma empírica, por análisis visuales realizados por la industria del aderezo.

Dado que se trata de un problema cuyo origen está en la recolección de la aceituna, y de forma más acusada en la mecanizada, muchos de los estudios realizados sobre el molestado están enmarcados en ensayos que evalúan la eficiencia de estos sistemas de recolección, o en trabajos que persiguen desarrollar procedimientos post-cosecha que minimicen este daño. En ensayos de recolección mediante vibradores de tronco para ‘Manzanilla de Sevilla’, se ha evaluado y cuantificado la evolución del molestado en el tiempo (Castro-García *et al.*, 2010; Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011). Otros trabajos han comparado la incidencia del molestado en función del sistema de recolección: mecánico (sacudidor de copa) o manual (Castro-García *et al.*, 2009).

Con el objeto de encontrar tratamientos para atenuar los daños debidos al pardeamiento, se ha estudiado en ‘Manzanilla de Sevilla’ el efecto del molestado sobre la respiración, compuestos fenólicos y cambios en la coloración de las zonas dañadas por los golpes (Segovia-Bravo *et al.*, 2011), utilizando diferentes sustancias tras la recolección: ácido ascórbico y metabisulfito de sodio. Otros investigadores emplean ácido ascórbico, ácido salicílico, ascorbato sódico e hidróxido sódico (Glozer *et al.*, 2008), para mitigar estos daños.

Parece ser que el factor tiempo es bastante decisivo en el nivel de incidencia del molestado en aceituna de mesa debido a que, a medida que transcurre, ya sea un golpe estandarizado, recolección manual o mecánica, se producen mayores porcentajes de frutos dañados (Castro-García *et al.*, 2010; Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011). Por ello, se plantea la idea de reducir la incidencia final del molestado, evitando su evolución. En este sentido, se está estudiando el transporte de los frutos sumergiéndolos en lejías diluidas tras la recolección, para evitar que se desarrolle el pardeamiento en las zonas golpeadas (Jaramillo *et al.*, 2011). De hecho, se ha demostrado el efecto inhibitor que tiene el NaOH sobre la reacción enzimática de oxidación en frutos de ‘Manzanilla de Sevilla’ (Ben-Shalom *et al.*, 1978). Este tratamiento, en concentraciones del 0,3%, tiene como efecto beneficioso la posibilidad de suprimir el periodo de reposo, que requiere esta variedad antes su cocido, evitando el “despellejado” de los frutos (Rejano *et al.*, 2008). Otras líneas de investigación, estudian la introducción de las aceitunas en una solución fría (8-10° C) para evitar este fenómeno (Segovia-Bravo *et al.*, 2011).

Uno de los factores a tener en cuenta es el tiempo mínimo necesario para introducir las aceitunas en esas disoluciones, ya que es de vital importancia intentar parar cuanto antes los procesos oxidativos que se desarrollan posteriormente, con el fin de evitar que el número de zonas molestadas y su intensidad de color sea mayor (Jaramillo *et al.*, 2011). Pasadas 24 horas de la recolección, los porcentajes de frutos molestados son próximos al 90% (Pastor *et al.*, 1979).

Existen diversos métodos para evaluar el molestado en aceituna de mesa. Uno de ellos consiste en estudiar la evolución en el tiempo de los daños producidos, de forma visual o mediante el análisis de imágenes: fotografiado digital, escaneado y procesado de imágenes con programas informáticos específicos (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011). Otros autores, utilizan espectrofotómetros (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2012; Segovia-Bravo *et al.*, 2011) o colorímetros (Glozer *et al.*, 2008) para medir la variación de color en la superficie de los frutos dañados. También se han utilizado recientemente calibres



digitales para medir áreas y volúmenes de la zona dañada, en frutos impactados en diferentes superficies (Saracoglu *et al.*, 2011).

#### I.5.2.3.- Implicaciones del molesto en las células y tejidos del fruto.-

La aceituna, es una drupa como el melocotón, albaricoque o ciruela (Rapoport, 2008). Se trata de un fruto con una sola semilla (a veces dos), compuesto por tres tejidos principales: exocarpo (piel o capa exterior), mesocarpo (pulpa o carne) y endocarpo endurecido (hueso) (King, 1938). El conjunto de estos tejidos se denomina pericarpo y tiene su origen en la pared del ovario (Rapoport, 2008). De todos ellos, el mesocarpo es el de mayor interés económico, por ser la parte comestible y donde se acumula el aceite, concretamente en las vacuolas de las células parenquimáticas (King, 1938). Como se ha comentado anteriormente, una alta proporción mesocarpo-endocarpo (relación pulpa-hueso) se considera deseable en aceituna de mesa (Garrido-Fernández *et al.*, 1997).

El exocarpo, o piel tiene una función protectora y está cubierto por una cutícula de grosor y composición variable según la especie (Esau, 1977). Unos autores consideran que el exocarpo está compuesto solamente por la epidermis, la capa unicelular externa, mientras que otros incluyen también varias capas de células subepidérmicas además de la epidermis (Roth, 1977). La epidermis está constituida por células de pequeño tamaño, alargadas y dispuestas tangencialmente, y cubierta por la cutícula, producida e extruida por ellas, en su pared externa. Por debajo de la epidermis las células son parenquimáticas, parecidas a las células del mesocarpo a su interior (Hammami y Rapoport, 2012). Cuando las capas subepidérmicas del exocarpo se distinguen visualmente de las del mesocarpo, por ejemplo en tamaño o forma, como en el albaricoque, se nombran hipodermis (Archibald y Melton, 1987; Roth, 1977). Debajo del exocarpo se encuentran las células parenquimáticas del mesocarpo o pulpa. Son células de tamaño relativamente uniforme, grandes, con una pared celular poco diferenciada que permite y favorece los procesos de división y expansión celular. Inicialmente tienen una gran cantidad de protoplasma, pero éste es reemplazado por uno o varios cuerpos lipídicos como consecuencia del almacenamiento de aceite (Matteucci *et al.*, 2011; Rangel *et al.*, 1997)

El exterior de la aceituna representa la zona de contacto del fruto con el medio, por lo que su estructura y composición celular influyen en la respuesta del fruto a los factores ambientales (Rapoport *et al.*, 2012). Esta zona exterior es muy susceptible a los daños y ha sido poco estudiada en aceituna de mesa. Utilizando métodos cuantitativos de análisis de imagen se ha podido describir y cuantificar recientemente aspectos



histológicos del exterior de la aceituna, como el tamaño, forma celular y el grosor de la cutícula, potencialmente implicados en la susceptibilidad a daños por golpes (Hammami y Rapoport, 2012). Estos autores comprobaron que la estructura celular externa del fruto varía entre los cultivares estudiados, en función de las características de las células epidérmicas, incluido el grosor de la cutícula. ‘Manzanilla de Sevilla’ presentó una cutícula más fina que el resto de los cultivares estudiados. En otros frutos como cereza y manzana también se han llevado a cabo estudios histológicos sobre los tejidos exteriores del fruto para determinar como afecta a la calidad la susceptibilidad a diversos factores externos. Entre ellos se ha investigado la relación entre el grosor de la cutícula y la susceptibilidad a la rotura de la piel en cultivares de cereza (Demirsoy y Demirsoy, 2004) y las implicaciones del grosor de la piel de diferentes cultivares de manzana en el transporte y la conservación poscosecha (Homutová y Blažek, 2006).

A pesar de que se ha abordado el estudio del molestaro desde diferentes perspectivas, no existen hasta la fecha trabajos específicos y sistemáticos sobre histología del fenómeno del molestaro en aceituna de mesa. La única excepción es el reciente trabajo de Hammami y Rapoport, (2012), anteriormente mencionado, que se centra fundamentalmente en la cutícula. Otros estudios hacen referencia a los daños externos en la piel o epidermis (Morales *et al.*, 2007), siguiendo la definición propuesta por la Reglamentación Técnico-Sanitaria mencionada con anterioridad (Real Decreto, 1230/2001). Sin embargo, se limitan a la evaluación de la zona dañada superficialmente (y visible en el exterior del fruto), lo que hace imposible determinar si los daños afectan sólo a la capa exterior de células.

La puesta a punto de una metodología de análisis histológico del molestaro permitiría observar y contrastar el aspecto que presentan las células no solo en la epidermis, sino a lo largo del mesocarpo, de aquellas zonas afectadas por un golpe. Delimitando la zona de pulpa dañada, exterior e interior, se podría conocer con más detalle esta alteración, observando los tipos de daños y cambios que experimentan las células de diferentes tejidos. La comparación de distintas variedades permitiría también estudiar si existe alguna diferencia anatómica que explique las diferencias en susceptibilidad al molestaro que manifiestan los cultivares de aceituna de mesa. Esto ayudaría a seleccionar de una manera más precisa y fiable nuevos genotipos y variedades progenitoras que presenten una baja susceptibilidad al fenómeno del molestaro, aspecto de especial importancia dentro de un programa de mejora genética de olivo enfocado a la aceituna de mesa.

## **CAPÍTULO 1**

### **1.1.- Evaluación de la variabilidad e influencia de los progenitores**



# ÍNDICE

---

<b>1.1.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-</b>	<b>23</b>
<b>1.1.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-</b>	<b>24</b>
<b>1.1.2.1.- Material vegetal y toma de datos.-</b>	<b>24</b>
1.1.2.1.1.- Recolección y toma de muestras en campo.-	28
1.1.2.1.2.- Toma de datos.-	35
<b>1.1.2.2.- Análisis estadístico.-</b>	<b>43</b>
<b>1.1.3.- RESULTADOS.-</b>	<b>46</b>
<b>1.1.3.1.- Variabilidad observada en la progenie.-</b>	<b>46</b>
1.1.3.1.1.- Producción.-	46
1.1.3.1.2.- Peso del fruto.-	50
1.1.3.1.3.- Relación pulpa-hueso.-	52
1.1.3.1.4.- Longitud del fruto.-	54
1.1.3.1.5.- Anchura del fruto.-	56
1.1.3.1.6.- Índice de forma del fruto.-	58
1.1.3.1.7.- Longitud del hueso.-	60
1.1.3.1.8.- Anchura del hueso.-	62
1.1.3.1.9.- Índice de forma del hueso.-	64
1.1.3.1.10.- Índice de madurez.-	66
1.1.3.1.11.- Textura de la pulpa.-	68
1.1.3.1.12.- Rendimiento graso.-	70
1.1.3.1.13.- Humedad del fruto.-	73
<b>1.1.3.2.- Estudio de la varianza y de la repetibilidad de los caracteres evaluados.-</b>	<b>75</b>
<b>1.1.3.3.- Influencia de los cruzamientos en los parámetros estudiados.-</b>	<b>81</b>
1.1.3.3.1.- Análisis de todos los cruzamientos.-	81
1.1.3.3.2.- Análisis del cruzamiento recíproco ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla’ y ‘Manzanilla’ x ‘Arbequina’.-	90
<b>1.1.3.4.- Influencia de los progenitores en los parámetros estudiados.-</b>	<b>92</b>
1.1.3.4.1.- Influencia del progenitor femenino.-	92
1.1.3.4.2.- Influencia del progenitor masculino.-	96
<b>1.1.4.- DISCUSIÓN.-</b>	<b>99</b>
<b>1.1.4.1.- Variabilidad observada en la progenie.-</b>	<b>99</b>
<b>1.1.4.2.- Estudios de la varianza y de la repetibilidad de los caracteres.-</b>	<b>104</b>
<b>1.1.4.3.- Influencia de los cruzamientos en los parámetros evaluados.-</b>	<b>109</b>
<b>1.1.4.4.- Influencia de los progenitores en los parámetros evaluados.-</b>	<b>111</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

---

**Tabla 1.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2006**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de genotipos por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-16**, **02-17**, etc.).*29

**Tabla 2.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2007**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de genotipos por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-16**, **02-17**, etc.; 2004: **04-1383**). ....* 30

**Tabla 3.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2008**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de árboles por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-16**, **02-17**, etc.; 2004: **04-1294**, **04-1295**, etc.). ....* 31

**Tabla 4.-** Continuación **campaña 2008**. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-997**, **02-1000**, etc.; 2004: **04-1498**, **04-1533**, etc.; 2005: **05-117**). ....* 32

**Tabla 5.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2009**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de árboles por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02-16**, **02-17**, etc.; 2004: **04-1294**, **04-1295**, etc.). ....* 33

**Tabla 6.-** Continuación **campaña 2009**. \* *A todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2004: **04-673**, **04-687**, etc.; 2005: **05-573**, **05-585**, etc.). ....* 34

**Tabla 7.-** Descripción de las categorías de aceitunas empleadas para el cálculo del índice de madurez (Ferreira, 1979)..... 42

## ÍNDICE DE TABLAS

---

<b>Tabla 8.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro producción (g/genotipo) para los diferentes años, producción acumulada y * <i>considerando la población de datos de todos los años.</i> ....	48
<b>Tabla 9.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) por cosecha para el parámetro producción (g/genotipo). ....	49
<b>Tabla 10.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro peso del fruto (g) para los diferentes años y * <i>considerando la población de datos de todos los años.</i> ....	51
<b>Tabla 11.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro relación pulpa-hueso para los diferentes años y * <i>considerando la población de datos de todos los años.</i> ....	53
<b>Tabla 12.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro longitud del fruto (mm) para los diferentes años y * <i>considerando la población de datos de todos los años.</i> ....	55
<b>Tabla 13.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro anchura del fruto (mm) para los diferentes años y * <i>considerando la población de datos de todos los años.</i> ....	57
<b>Tabla 14.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de forma del fruto para los diferentes años y * <i>considerando la población de datos de todos los años.</i> ....	59
<b>Tabla 15.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro longitud del hueso (mm) para los diferentes años y * <i>considerando la población de datos de todos los años.</i> ....	61
<b>Tabla 16.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro anchura del hueso (mm) para los diferentes años y * <i>considerando la población de datos de todos los años.</i> ....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

---

<b>Tabla 17.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de forma del hueso para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años.....	65
<b>Tabla 18.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de madurez para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años.....	67
<b>Tabla 19.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro textura de la pulpa (KN/100g) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años.....	69
<b>Tabla 20.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro rendimiento graso sobre peso fresco (%) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	71
<b>Tabla 21.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro rendimiento graso sobre peso seco (%) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	72
<b>Tabla 22.-</b> Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro humedad del fruto (%) para los diferentes años y * considerando la población de datos de todos los años. ....	74
<b>Tabla 23.-</b> Porcentaje de la varianza entre genotipo, año (2006, 2007 y 2008) y residual para los parámetros: producción (g/genotipo) ( <b>PROD</b> ), peso del fruto (g) ( <b>PF</b> ), relación pulpa-hueso ( <b>P/H</b> ), longitud del fruto (mm) ( <b>LF</b> ), anchura del fruto (mm) ( <b>AF</b> ), índice de forma del fruto ( <b>IFF</b> ), longitud del hueso (mm) ( <b>LH</b> ), anchura del hueso (mm) ( <b>AH</b> ), índice de forma del hueso ( <b>IFH</b> ), índice de madurez ( <b>IM</b> ), textura de la pulpa (KN/100g) ( <b>TEX</b> ), rendimiento graso sobre peso fresco (%) ( <b>RTO F</b> ), rendimiento graso sobre peso seco (%) ( <b>RTO S</b> ) y humedad del fruto (%) ( <b>HUM</b> ). Para este análisis se ha considerado sólo aquellos genotipos que se repiten en los tres años ( <b>Diseño equilibrado</b> ). <b>ns:</b> no significativo; * significativo $P \leq 0,05$ , *** significativo $P \leq 0,001$ .....	76

## ÍNDICE DE TABLAS

---

**Tabla 24.-** Comparación de medias entre los distintos años (2006, 2007 y 2008) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). *Para este análisis se ha considerado sólo aquellos genotipos que se repiten en los tres años (Diseño equilibrado). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ )*..... 80

**Tabla 25.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**) y relación pulpa-hueso (**P/H**) por cruzamiento: **A x M**: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M**: ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre**: ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT**: ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M**: ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre**: ‘Gordal Libre’. **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado)*. .... 83

**Tabla 26.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**) e índice de forma del fruto (**IFF**) por cruzamiento: **A x M**: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M**: ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre**: ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT**: ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M**: ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre**: ‘Gordal Libre’. **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado)*. .... 85

## ÍNDICE DE TABLAS

---

**Tabla 27.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**) e índice de madurez (**IM**) por cruzamiento: **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M:** ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre:** ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT:** ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M:** ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre:** ‘Gordal Libre’. **Frec:** Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado).* ..... 87

**Tabla 28.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**) por cruzamiento: **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M:** ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre:** ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT:** ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M:** ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre:** ‘Gordal Libre’. **Frec:** Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado).* ..... 89

**Tabla 29.-** Comparación de medias entre los cruzamientos (**A x M** y **M x A**) y años (2007 y 2008) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**) y longitud del hueso (mm) (**LH**). **Frec:** Frecuencia. **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’. *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2007 y 2008) (Diseño equilibrado). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).* ..... 91



## ÍNDICE DE TABLAS

---

<b>Tabla 30.-</b> Comparación de medias entre los cruzamientos ( <b>A x M</b> y <b>M x A</b> ) y años (2007 y 2008) para los parámetros: anchura del hueso (mm) ( <b>AH</b> ), índice de forma del hueso ( <b>IFH</b> ), índice de madurez ( <b>IM</b> ), textura de la pulpa (KN/100g) ( <b>TEXT</b> ), rendimiento graso sobre peso fresco (%) ( <b>RTO F</b> ), rendimiento graso sobre peso seco (%) ( <b>RTO S</b> ) y humedad del fruto (%) ( <b>HUM</b> ). <b>Frec:</b> Frecuencia. <b>A x M:</b> ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y <b>M x A:</b> ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’. <i>Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2007 y 2008) (Diseño equilibrado). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD, <math>P \leq 0,05</math>).</i> .....	91
<b>Tabla 31.-</b> Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: producción (g/genotipo) ( <b>PROD</b> ), peso del fruto (g) ( <b>PF</b> ) y relación pulpa-hueso ( <b>P/H</b> ). <i>Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec: Frecuencia y <b>CV (%)</b>: Coeficiente de variación. <i>Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD, <math>P \leq 0,05</math>).</i>.....</i>	94
<b>Tabla 32.-</b> Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: longitud del fruto (mm) ( <b>LF</b> ), anchura del fruto (mm) ( <b>AF</b> ) e índice de forma del fruto ( <b>IFF</b> ). <i>Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec: Frecuencia y <b>CV (%)</b>: Coeficiente de variación. <i>Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD, <math>P \leq 0,05</math>).</i>.....</i>	94
<b>Tabla 33.-</b> Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: longitud del hueso (mm) ( <b>LH</b> ), anchura del hueso (mm) ( <b>AH</b> ), índice de forma del hueso ( <b>IFH</b> ) e índice de madurez ( <b>IM</b> ). <i>Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec: Frecuencia y <b>CV (%)</b>: Coeficiente de variación. <i>Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD, <math>P \leq 0,05</math>).</i>.....</i>	95
<b>Tabla 34.-</b> Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) ( <b>TEXT</b> ), rendimiento graso sobre peso fresco (%) ( <b>RTO F</b> ), rendimiento graso sobre peso seco (%) ( <b>RTO S</b> ) y humedad del fruto (%) ( <b>HUM</b> ). <i>Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec: Frecuencia y <b>CV (%)</b>: Coeficiente de variación. <i>Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD, <math>P \leq 0,05</math>).</i>.....</i>	95

## ÍNDICE DE TABLAS

---

**Tabla 35.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**) y relación pulpa-hueso (**P/H**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). **Frec:** Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). ..... 97

**Tabla 36.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**) e índice de forma del fruto (**IFF**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). **Frec:** Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). ..... 97

**Tabla 37.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**) e índice de madurez (**IM**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). **Frec:** Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). ..... 98

**Tabla 38.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). **Frec:** Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). ..... 98

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura 5.-</b> Cruzamientos llevados a cabo en el IFAPA “Alameda del Obispo” de Córdoba (a) y en la finca comercial de Utrera (Sevilla) (b). .....	25
<b>Figura 6.-</b> Detalle del proceso de obtención de genotipos en el programa de mejora de la Universidad de Sevilla: deshuesado de los frutos para la obtención de las semillas (a); Tratamiento fúngico realizado a las semillas (b); Estratificación de las semillas en placas Petri con perlita humedecida (c); colocación en cámaras de cultivo (d); siembra en alvéolos (e); colocación en cámaras de germinación (f y g); transplante en macetas de 3 L (h); crecimiento forzado en el invernadero (i); detalle del sistema de iluminación y cooling empleado en el invernadero (j); riego y fertilización empleado (k) y colocación de tutores (l). .....	26
<b>Figura 7.-</b> Situación de la plantación de olivos, indicada en color rojo, en el IFAPA Centro las “Las Torres-Tomejil” de Alcalá del Río (Sevilla): polígono 7, parcela 16, recinto 22 (a). Detalle de la plantación en el año 2004 (b) y actualmente (c). .....	27
<b>Figura 8.-</b> Esquema de evaluación de los parámetros analizados en las submuestras de las campañas 2006, 2007 y 2008. Se indica además, el tamaño de cada una de las submuestras y el lugar de la determinación de las mismas. ....	36
<b>Figura 9.-</b> Esquema de evaluación de los parámetros analizados en las submuestras de la campaña 2009. Se indica además, el tamaño de cada una de las submuestras y el lugar de la determinación de las mismas. ....	37
<b>Figura 10.-</b> Evaluación de parámetros medidos en campo y en el laboratorio de la ETSIA: recolección manual de los genotipos en campo (a); peso exacto de la muestra, mediante balanza de precisión en el laboratorio (b); deshuesado manual (sólo campaña 2006) (c); deshuesado de los frutos mediante un mazo de goma (campañas 2007, 2008 y 2009) (d); medición de la longitud máxima de un fruto, mediante un calibre digital (e) y medición de la longitud máxima de un hueso mediante un calibre digital (f). .....	41
<b>Figura 11.-</b> Texturómetro ( <b>Instron Modelo 1011</b> ) utilizado para la evaluación de la textura de la pulpa de los genotipos (a). Detalle de una balanza de precisión, donde puede visualizar el peso de una de las muestras, procedente del genotipo 02-16 (‘Manzanilla Libre’) para la campaña 2006 (b). ....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura 12.-</b> Histogramas de frecuencia de producción (g/genotipo) por año (2006, 2007, 2008) y producción acumulada para los tres años: <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	48
<b>Figura 13.-</b> Histogramas de frecuencia por cosechas para el parámetro producción (g/genotipo). .....	49
<b>Figura 14.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro peso del fruto (g): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	51
<b>Figura 15.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro relación pulpa-hueso: <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	53
<b>Figura 16.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro longitud del fruto (mm): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	55
<b>Figura 17.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro anchura del fruto (mm): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	57
<b>Figura 18.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de forma del fruto: <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	59
<b>Figura 19.-</b> Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro longitud del hueso (mm): <b>M</b> , <b>A</b> y <b>G</b> , representan los valores de este parámetro para los progenitores ( <b>M</b> : ‘Manzanilla de Sevilla’, <b>A</b> : ‘Arbequina’, <b>G</b> : ‘Gordal Sevillana’). <i>*Considerando la población de datos de todos los años.</i> .....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

- Figura 20.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro anchura del hueso (mm): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). *\*Considerando la población de datos de todos los años.* ..... 63
- Figura 21.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de forma del hueso: **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). *\*Considerando la población de datos de todos los años.* ..... 65
- Figura 22.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de madurez: **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). *\*Considerando la población de datos de todos los años.*..... 67
- Figura 23.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro textura de la pulpa (KN/100g): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). *\*Considerando la población de datos de todos los años.* ..... 69
- Figura 24.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro rendimiento graso sobre peso fresco (%): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). *\*Considerando la población de datos de todos los años.*..... 71
- Figura 25.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro rendimiento graso sobre peso seco (%): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). *\*Considerando la población de datos de todos los años.* ..... 72
- Figura 26.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro humedad del fruto (%): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). *\*Considerando la población de datos de todos los años.*..... 74

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 27.-** Porcentaje de la suma de cuadrados (%) entre cruzamientos (verde), genotipos dentro del cruzamiento (naranja), año (blanco) y residual (amarillo) para los 14 parámetros analizados de los cuatro años: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). La significación indicada para cada parámetro corresponde a la encontrada entre cruzamientos: \*\* significativo  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ . ..... 78

### 1.1.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-

En programas de mejora de olivo, la selección de nuevos genotipos no se encuentra tan avanzada como en otras especies frutales (Rallo *et al.*, 2011b). Esto se debe principalmente al elevado período juvenil, alta heterocigosidad y bajo conocimiento sobre la heredabilidad de los caracteres en el olivo.

Los programas de mejora por cruzamiento en una especie heterocigótica como el olivo, suelen generar gran variabilidad en parámetros de interés, tanto agronómicos como de calidad (El Riachy *et al.*, 2012b). Esta alta variabilidad es necesaria para poder seleccionar genotipos con caracteres interesantes, pero exige evaluar y caracterizar amplias poblaciones segregantes, aspecto que puede ser crítico y limitante en los programas de mejora.

En olivo, la mayoría de los trabajos sobre evaluación de la progenie se han desarrollado en programas orientados a la obtención de variedades de aceite y se caracterizan por la alta variabilidad entre genotipos para cualquier carácter medible. En aceituna de mesa, la información disponible sobre variabilidad en caracteres relacionados con la calidad del fruto y su posible herencia es aún limitada. En mejora de olivo para aceite hay estudios, tanto en progenies como en selecciones avanzadas, de diferentes parámetros agronómicos (De la Rosa *et al.*, 2008; León *et al.*, 2004d) y de calidad, como compuestos fenólicos (El Riachy *et al.*, 2012a; El Riachy *et al.*, 2012b), ácidos grasos (León *et al.*, 2011a; León *et al.*, 2008; León *et al.*, 2004e) y componentes menores (León *et al.*, 2011a), entre otros.

En otros programas, orientados a mesa, aceite y doble aptitud, se ha encontrado una alta variabilidad para parámetros morfológicos del fruto y del hueso como peso, forma y tamaño y relación pulpa-hueso (Bellini *et al.*, 2002a; Bellini *et al.*, 2002b; Ersoy *et al.*, 2008). Otros caracteres evaluados hacen referencia a inicio de la floración, maduración (Ersoy *et al.*, 2008), color de piel (Bellini *et al.*, 2002a; Bellini *et al.*, 2002b), firmeza y facilidad de separación de la pulpa (Ersoy *et al.*, 2008).

El concepto de heredabilidad trata de cuantificar en qué medida un carácter se transmite de un progenitor a sus descendientes (León *et al.*, 2005b). Sin embargo, en los programas de mejora de olivo, no puede estimarse hasta fases más avanzadas (*preselecciones* y *selecciones avanzadas*), donde se dispone de un mayor número de individuos por genotipo. En estos casos la repetibilidad resulta de interés, ya que establece los límites superiores de la heredabilidad (Falconer, 1989) y puede ser calculada sin mucha sofisticación experimental. Aunque la repetibilidad es un

parámetro de interés en programas de mejora de aceituna de mesa, existen hasta la fecha escasos trabajos sobre el tema. En programas de olivo para aceite, ha sido calculada en poblaciones segregantes para la composición en ácidos grasos (León *et al.*, 2004c) y caracteres agronómicos como peso del fruto, porcentaje de humedad, relación pulpa-hueso y contenido en aceite, entre otros (León *et al.*, 2004d).

En otras especies frutales como chirimoya (DoVale *et al.*, 2011), melocotón (Albuquerque *et al.*, 2004) y uva (De Souza Leão y Da Costa, 2003) existen también diversos estudios sobre repetibilidad.

Además de estudiar la variabilidad y repetibilidad de los parámetros de interés en un programa de mejora, resulta fundamental evaluar la influencia de los progenitores en la herencia de dichos parámetros, para poder elegir aquellos padres y caracteres más fácilmente modificables por cruzamiento. En olivo, muchos de los trabajos publicados sobre la posible influencia de los progenitores se han llevado a cabo para caracteres como precocidad de la primera floración, con el fin de acortar el periodo juvenil (De la Rosa *et al.*, 2006; Santos-Antunes *et al.*, 2005; Suárez *et al.*, 2011), o para la capacidad de germinación (Bellini *et al.*, 2002a).

En este capítulo se pretende profundizar en el conocimiento de la genética del olivo a partir de la evaluación de 407 nuevos genotipos obtenidos por cruzamiento en el programa de mejora de aceituna de mesa de la Universidad de Sevilla.

En concreto se persigue los siguientes objetivos:

- 1.- Estudiar la variabilidad existente en las progenies de olivo para 14 parámetros de interés en aceituna de mesa analizados en cuatro años (2006, 2007, 2008 y 2009).
- 2.- Estimar los componentes de la varianza y repetibilidad de dichos caracteres para todos los cruzamientos, genotipos y años estudiados.
- 3.- Evaluar la posible influencia de los diferentes cruzamientos y progenitores utilizados en estos años, para cada uno de los parámetros analizados.

### **1.1.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-**

#### **1.1.2.1.- Material vegetal y toma de datos.-**

Las muestras de aceitunas analizadas en este trabajo, proceden de genotipos obtenidos mediante cruzamientos entre distintas variedades del programa de mejora de aceituna de mesa de la Universidad de Sevilla. Los cruzamientos se llevaron a cabo en el IFAPA “Alameda del Obispo” de Córdoba (Figura 5a), en una finca comercial de Utrera



(Sevilla) (Figura 5b) y en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica (ETSIA) de la Universidad de Sevilla, en los años 2002, 2004 y 2005.

**Figura 5.-** Cruzamientos llevados a cabo en el IFAPA “Alameda del Obispo” de Córdoba (a) y en la finca comercial de Utrera (Sevilla) (b).



Los frutos obtenidos en cada cruzamiento y campaña fueron recolectados y deshuesados en septiembre de 2002, 2004 y 2005 (Figura 6a). Las semillas obtenidas fueron sometidas a un tratamiento con fungicida (2 g/L de Ziram al 90%, durante 5 minutos) (Figura 6b). A continuación, fueron estratificadas en placas Petri, con perlita humedecida (Figura 6c), en condiciones de oscuridad a 14° C, dentro de cámaras de cultivo (Figura 6d). Después de 28-45 días, fueron sembradas en bandejas de alvéolos (Figura 6e) y colocadas durante 45 días en las cámaras de crecimiento, con luz continua a 24° C (Figuras 6f y 6g). Transcurrido este tiempo, se transplantaron a macetas de 3 L (mezcla de arena limosa y turba 1:5) (Figura 6h) y se trasladaron a un invernadero durante aproximadamente un año (Figura 6i), con fotoperiodo continuo, control de temperatura (cooling en verano y calefacción en invierno) (Figura 6j), riego y fertilización (Figura 6k). Se colocaron tutores (Figura 6l) y se realizó una poda a los brotes laterales para favorecer el crecimiento en altura, con el fin de acortar el periodo juvenil (Santos-Antunes *et al.*, 2005).

**Figura 6.-** Detalle del proceso de obtención de genotipos en el programa de mejora de la Universidad de Sevilla: deshuesado de los frutos para la obtención de las semillas (**a**); Tratamiento fúngico realizado a las semillas (**b**); Estratificación de las semillas en placas Petri con perlita humedecida (**c**); colocación en cámaras de cultivo (**d**); siembra en alvéolos (**e**); colocación en cámaras de germinación (**f** y **g**); transplante en macetas de 3 L (**h**); crecimiento forzado en el invernadero (**i**); detalle del sistema de iluminación y cooling empleado en el invernadero (**j**); riego y fertilización empleado (**k**) y colocación de tutores (**l**).

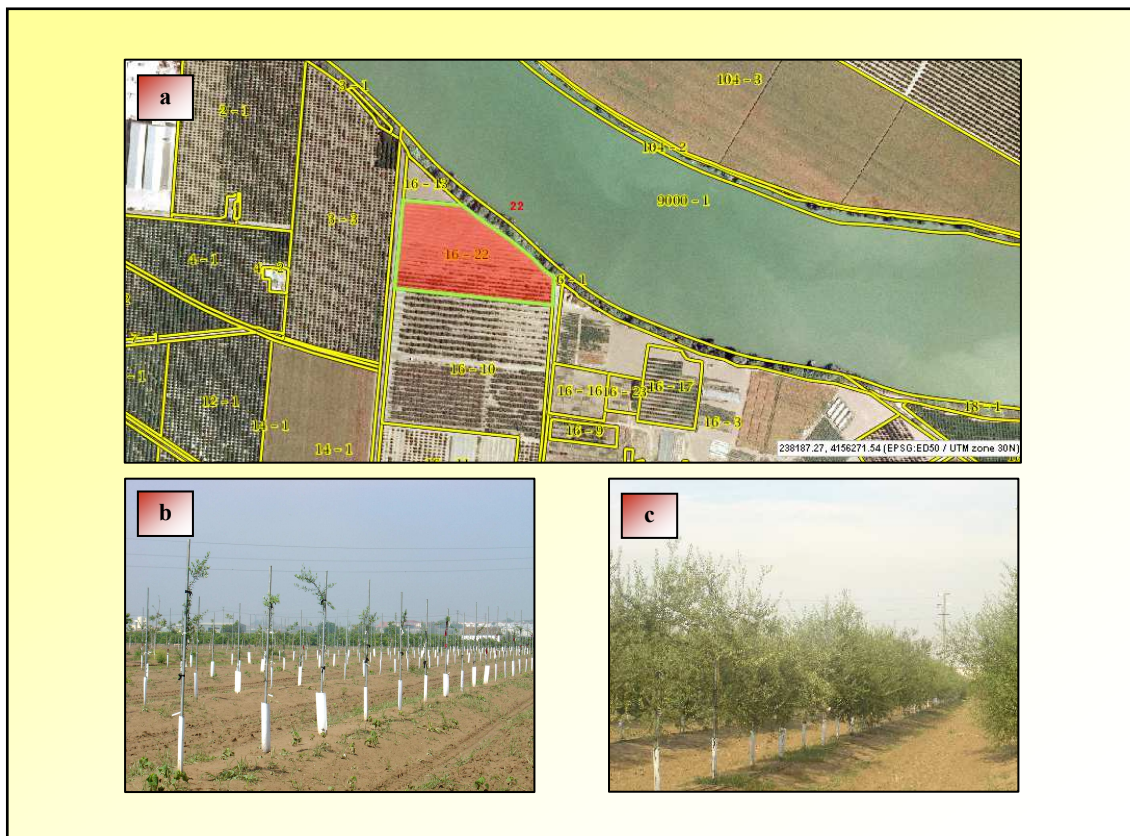


En enero de 2004, tras el crecimiento forzado en invernadero, los genotipos procedentes de los cruzamientos de 2002, fueron plantados en campo en el IFAPA Centro las “Torres-Tomejil” de Alcalá del Río (Sevilla) (Figura 7 y Anexo 1). Se colocaron en caballones, con un marco de plantación de 5 x 3 m, se entutoraron y se pusieron protectores en la base de los árboles. A cada genotipo se le colocó una etiqueta identificativa con el número del genotipo correspondiente, precedido del año de cruzamiento (Ej.: 02-16). Para cubrir las necesidades hídricas y nutricionales de los



plantones se instaló un riego por goteo con fertirrigación. Para las progenies resultantes de los cruzamientos de 2004 y 2005, se realizaron las mismas operaciones en enero de 2006 y 2007, respectivamente, utilizándose un marco de plantación más estrecho: 5 x 1,5 m (Anexo 1).

**Figura 7.-** Situación de la plantación de olivos, indicada en color rojo, en el IFAPA Centro las “Las Torres-Tomejil” de Alcalá del Río (Sevilla): polígono 7, parcela 16, recinto 22 (a). Detalle de la plantación en el año 2004 (b) y actualmente (c).



**Fuente:** Sistema de Información Geográfica de identificación de parcelas agrícolas, SIGPAC, 2012 (<http://sigpac.mapa.es/fega/visor/>).

Una vez que los genotipos fueron superando la juvenilidad en campo y alcanzado una producción suficiente por árbol, se procedió a su evaluación. En este trabajo, se han analizado a lo largo de cuatro campañas un total de 407 genotipos, algunos de ellos en las cuatro campañas y otros sólo en determinados años:

- **Campaña 2006:** 126 genotipos
- **Campaña 2007:** 210 genotipos
- **Campaña 2008:** 277 genotipos
- **Campaña 2009:** 214 genotipos

Además de estos genotipos, en cada campaña (excepto en 2006) se han evaluado tres progenitores: ‘Manzanilla de Sevilla’, ‘Gordal Sevillana’ y ‘Arbequina’, situados en la misma plantación del IFAPA Centro las “Torres-Tomejil” de Alcalá del Río (Sevilla). Los demás progenitores, utilizados en los cruzamientos, no fueron evaluados al no haber entrado en producción.

En las tablas 1, 2, 3, 4, 5 y 6, se presenta la relación de genotipos analizados en cada una de las campañas. Se indica el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de genotipos por cruzamiento.

#### 1.1.2.1.1.- Recolección y toma de muestras en campo.-

La recolección de las aceitunas se realizó en septiembre de 2006, 2007, 2008 y 2009 mediante ordeño manual, en el momento óptimo de madurez de los frutos ((IM=1), (Ferreira, 1979)). Para todas las campañas se determinó y se anotó en campo el peso de la producción por genotipo (g), mediante una balanza digital. En la campaña 2009 no se midió este parámetro debido a la poca consistencia que presentó en el tiempo.

Una vez anotada la producción, se tomó una muestra de 2,5 kg de aceitunas de aquellos genotipos cuya cosecha fue suficiente como para tomar dicha cantidad. A continuación, se introdujeron en bolsas de plástico, previamente identificadas con el código del genotipo y campaña correspondiente. Posteriormente, fueron trasladadas al laboratorio de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica (ETSIA) de la Universidad de Sevilla y se colocaron en cámaras a 4° C, hasta su posterior análisis.

**Tabla 1.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2006**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de genotipos por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02**-16, **02**-17, etc.).*

Cruzamiento	Número del Genotipo*	Año Cruzamiento	Año Plantación	Total Genotipos
‘Manzanilla Libre’	<b>02:</b> 16, 17, 20, 24, 25, 53, 118, 138, 146, 147, 150, 185, 186, 218, 242, 244, 248, 249, 258, 330, 352, 356, 357, 383, 461, 464, 468, 469	2002	2004	28
‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>02:</b> 496, 503, 506, 509, 511, 514, 636, 641, 649, 650, 696, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 706, 707, 710, 712, 713, 714, 827, 828, 831, 835, 836, 837, 841, 843, 844, 845, 851, 852, 853, 856, 861, 862, 866, 867, 871, 872, 877, 882, 901, 904, 906, 910, 911, 912, 913, 915, 916, 917, 918, 921, 922, 924, 927, 928, 929, 933, 936, 937, 939, 940	2002	2004	67
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>02:</b> 556, 557, 560, 562, 564, 566, 567, 568, 571, 572, 573, 575, 597, 599, 603, 604, 610, 613, 614, 615, 657, 658, 659, 660, 662, 663, 666, 671, 672, 675	2002	2004	30
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>02:</b> 1030	2002	2004	1

**Tabla 2.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2007**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de genotipos por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02**-16, **02**-17, etc.; 2004: **04**-1383).*

Cruzamiento	Número del Genotipo*	Año Cruzamiento	Año Plantación	Total Genotipos
‘Manzanilla Libre’	<b>02:</b> 16, 17, 20, 24, 25, 44, 45, 53, 106, 118, 138, 139, 140, 146, 147, 150, 157, 183, 185, 186, 212, 218, 242, 243, 244, 248, 249, 256, 257, 258, 325, 330, 352, 356, 357, 363, 366, 381, 383, 413, 415, 441, 453, 461, 463, 464, 468, 469	2002	2004	48
‘Manzanilla Libre’	<b>04:</b> 1383	2004	2006	1
‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>02:</b> 498, 499, 503, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 636, 638, 639, 641, 644, 645, 646, 649, 650, 651, 652, 696, 698, 699, 700, 701, 703, 704, 706, 707, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 856, 857, 859, 861, 862, 866, 867, 868, 871, 872, 874, 877, 881, 882, 883, 884, 901, 904, 906, 909, 910, 911, 912, 913, 915, 916, 917, 918, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 927, 928, 929, 930, 931, 933, 935, 936, 937, 938, 939, 940	2002	2004	110
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>02:</b> 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 571, 572, 573, 575, 597, 598, 599, 600, 603, 604, 605, 607, 608, 609, 610, 613, 614, 615, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 666, 667, 672, 675	2002	2004	43
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>02:</b> 1000, 1002, 1003, 1006, 1030, 1036, 1037, 1038	2002	2004	8

**Tabla 3.-** Relación de genotipos analizados para la **campana 2008**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de árboles por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02**-16, **02**-17, etc.; 2004: **04**-1294, **04**-1295, etc.).*

Cruzamiento	Número del Genotipo*	Año Cruzamiento	Año Plantación	Total Genotipos
‘Manzanilla Libre’	<b>02:</b> 16, 17, 20, 22, 25, 44, 45, 53, 75, 106, 118, 137, 138, 139, 140, 146, 147, 150, 157, 183, 185, 186, 212, 218, 242, 243, 244, 246, 248, 249, 253, 256, 257, 258, 321, 322, 326, 329, 330, 352, 356, 357, 366, 381, 383, 413, 414, 415, 427, 441, 453, 461, 463, 464, 468, 469	2002	2004	56
‘Manzanilla Libre’	<b>04:</b> 1294, 1295, 1331, 1383, 1388, 1400, 1403, 1405, 1410, 1425, 1435	2004	2006	11
‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>02:</b> 496, 497, 498, 499, 501, 503, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 636, 637, 638, 639, 644, 645, 646, 647, 649, 650, 651, 652, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 706, 707, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 856, 857, 859, 860, 861, 862, 866, 867, 868, 869, 872, 874, 876, 877, 879, 881, 882, 883, 884, 901, 904, 906, 909, 910, 911, 912, 913, 915, 916, 917, 918, 920, 921, 922, 923, 924, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 933, 935, 936, 937, 938, 939, 940	2002	2004	121
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>02:</b> 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 571, 572, 573, 574, 575, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 666, 667, 671, 672, 675	2002	2004	50

**Tabla 4.-** Continuación **campaña 2008.** \* Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02**-997, **02**-1000, etc.; 2004: **04**-1498, **04**-1533, etc.; 2005: **05**-117).

Cruzamiento	Número del Genotipo*	Año Cruzamiento	Año Plantación	Total Genotipos
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>02:</b> 997, 1000, 1002, 1003, 1006, 1007, 1010, 1016, 1030, 1034, 1036, 1037, 1038, 1040	2002	2004	14
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>04:</b> 1498, 1533	2004	2006	2
‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>04:</b> 1475, 1487	2004	2006	2
‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>04:</b> 777, 823, 853, 854, 857, 875, 884, 890, 900, 950, 968, 1012, 1048, 1054, 1082, 1236	2004	2006	16
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’	<b>04:</b> 1, 154, 455, 484	2004	2006	4
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’	<b>05:</b> 117	2005	2007	1



**Tabla 5.-** Relación de genotipos analizados para la **campaña 2009**. Se indica además, el cruzamiento, número del genotipo, año del cruzamiento, año de plantación y número total de árboles por cruzamiento. \* *Todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2002: **02**-16, **02**-17, etc.; 2004: **04**-1294, **04**-1295, etc.).*

Cruzamiento	Número del Genotipo*	Año Cruzamiento	Año Plantación	Total Genotipos
‘Manzanilla Libre’	<b>02:</b> 16, 17, 186, 322, 381, 453, 461, 464, 469	2002	2004	9
‘Manzanilla Libre’	<b>04:</b> 1294, 1295, 1331, 1345, 1355, 1369, 1372, 1383, 1388, 1390, 1391, 1396, 1400, 1403, 1404, 1405, 1408, 1410, 1425, 1435, 1437, 1445	2004	2006	22
‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>02:</b> 499, 501, 503, 508, 509, 513, 514, 636, 644, 646, 827, 830, 840, 841, 844, 846, 847, 848, 849, 852, 853, 857, 860, 866, 874, 876, 883, 884, 933, 936, 937, 940	2002	2004	32
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>02:</b> 559, 560, 562, 566, 573, 601, 605, 609, 658, 664, 667, 671	2002	2004	12
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>02:</b> 1003, 1007, 1010, 1038	2002	2004	4
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>04:</b> 1495, 1498, 1502, 1556, 1558, 1562	2004	2006	6
‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>04:</b> 1464, 1470, 1472, 1474, 1475, 1476, 1677, 1482, 1487	2004	2006	9

**Tabla 6.-** Continuación **campana 2009**. \* *A todos los genotipos llevan delante del número un código identificativo del año de cruzamiento, indicado en negrita en cada caso (Ej.: 2004: **04**-673, **04**-687, etc.; 2005: **05**-573, **05**-585, etc.).*

Cruzamiento	Número del Genotipo*	Año Cruzamiento	Año Plantación	Total Genotipos
‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>04:</b> 673, 687, 690, 777, 823, 833, 837, 845, 853, 854, 857, 870, 875, 884, 890, 900, 919, 937, 950, 968, 1012, 1019, 1048, 1054, 1082, 1084, 1090, 1101, 1135, 1165, 1167, 1181, 1186, 1217, 1234, 1236	2004	2006	36
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’	<b>04:</b> 1, 3, 94, 104, 154, 229, 238, 246, 271, 310, 354, 380, 385, 388, 421, 470, 484, 486, 525, 528, 586	2004	2006	21
‘Gordal Libre’	<b>04:</b> 1586	2004	2006	1
‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’	<b>05:</b> 573, 585, 587, 588, 591, 593, 599, 616, 632, 653, 654	2005	2007	11
‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’	<b>05:</b> 13, 56, 82, 108, 117, 119, 121, 135, 138, 139, 150, 158, 159, 193, 217, 237, 254, 258, 275, 284, 288, 326, 342, 343, 350, 357, 371, 381, 383, 396, 408, 420, 422, 433, 453, 456, 459, 462, 464, 465, 471, 472, 473, 481, 483, 486, 487, 499, 500, 501, 514	2005	2007	51

## 1.1.2.1.2.- Toma de datos.-

Para todas las campañas y genotipos analizados, la muestra de 2,5 kg se subdividió en cuatro submuestras, tres de ellas de 0,5 kg aproximadamente, y otra de 50 frutos. Cada una de ellas se introdujo en una bolsa de plástico, etiquetándose previamente con el código del genotipo y campaña. El procedimiento de evaluación realizado para cada submuestra y campaña se resume en las figuras 4 y 5.

Los parámetros evaluados en las cuatro campañas fueron:

- *Producción por genotipo* (excepto para 2009)
- *Parámetros del fruto:*
  - *Peso del fruto*
  - *Relación pulpa-hueso*
  - *Longitud del fruto*
  - *Anchura del fruto*
  - *Índice de forma del fruto*
  - *Longitud del hueso*
  - *Anchura del hueso*
  - *Índice de forma del hueso*
- *Índice de madurez*
- *Textura de la pulpa*
- *Rendimiento graso(sobre peso fresco y sobre peso seco)*
- *Humedad del fruto*

Debido a la imposibilidad de realizar de forma simultánea todas las evaluaciones de estos parámetros, a partir de la campaña 2007 la submuestra de 0,5 kg, utilizada para determinar la relación pulpa-hueso, fue congelada en una cámara a -20° C, una vez medido el peso medio de los frutos (Figuras 8 y 9).

**Figura 8.-** Esquema de evaluación de los parámetros analizados en las submuestras de las campañas 2006, 2007 y 2008. Se indica además, el tamaño de cada una de las submuestras y el lugar de la determinación de las mismas.



**Figura 9.-** Esquema de evaluación de los parámetros analizados en las submuestras de la campaña 2009. Se indica además, el tamaño de cada una de las submuestras y el lugar de la determinación de las mismas.



A continuación, se detallan los parámetros evaluados en los diferentes genotipos de las cuatro campañas analizadas en este trabajo:

*Producción por árbol.-*

Se recogieron todos los frutos de cada árbol (genotipo) (Figura 10a) y se pesaron en campo en una balanza digital. Los datos obtenidos por genotipo y campaña (excepto 2009), fueron anotados en un estadillo de campo.

*Parámetros del fruto.-*

Para todas las campañas y genotipos, la evaluación de los parámetros relacionados con la morfología del fruto se realizó en el laboratorio de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica (ETSIA) de la Universidad de Sevilla, tal como se indica en las figuras 8 y 9:

*1.- Peso del fruto.-*

Este parámetro se determinó a partir del peso de una muestra de 0,5 kg, aproximadamente, de la siguiente forma:

- 1.- Se anotó el peso exacto de la muestra (g), mediante una balanza de precisión (Figura 10b) y se contabilizó el número de frutos.
- 2.- Posteriormente, se calculó el peso individual por fruto mediante la siguiente relación:

$$P_m = \frac{P_e}{N_f}$$

donde:

- ‘ $P_m$ ’ es el peso medio del fruto en g
- ‘ $P_e$ ’ es el peso exacto de la muestra en fresco en g
- ‘ $N_f$ ’ es el número total de frutos

*2.- Relación pulpa-hueso.-*

Para todas las campañas y genotipos se realizó con una submuestra de 0,5 kg, aplicando la siguiente fórmula:

$$R_{P/H} = \frac{P_e - P_h}{P_h}$$

donde:

- ‘ $R_{P/H}$ ’ es la relación pulpa-hueso
- ‘ $P_e$ ’ es el peso exacto de la muestra en fresco en g
- ‘ $P_h$ ’ es el peso fresco de los huesos en g

El peso exacto de la muestra en fresco ('Pe') se determinó el mismo día de la recolección y después se congeló. Para obtener el peso de los huesos ('Ph'), se realizó el deshuesado de los frutos con una deshuesadora manual (campaña 2006) (Figura 10c) o mediante el siguiente procedimiento (campaña 2007, 2008 y 2009):

- 1.- Las muestras fueron sacadas del congelador (-20° C), el mismo día de su análisis, y se descongelaron mediante un golpe de calor aplicado en un microondas convencional durante 5-8 minutos, aproximadamente.
- 2.- Una vez descongeladas, se machacaron con un mazo de goma y se procedió a separar la pulpa del hueso (Figura 10d).
- 3.- Los huesos fueron colocados sobre papel absorbente, en bandejas de poliespan y a temperatura ambiente durante 24-48 horas, para facilitar su secado.
- 4.- Una vez secos, se procedió a limpiar los restos de pulpa que hubieran quedado adheridos, mediante raspado con navajas. Después se procedió a su lavado con agua, para terminar de eliminar los restos de pulpa.
- 5.- Una vez limpios, se pesaron en una balanza de precisión de laboratorio y se calculó la relación pulpa-hueso mediante la fórmula indicada anteriormente.

### 3.-Índice de forma de fruto.-

La evaluación de este parámetro se realizó a partir de la muestra de 50 frutos por genotipo y campaña. Se utilizó un calibre digital con el que se midió la longitud y anchura máxima de cada fruto en mm (Figura 10e). Posteriormente, se determinó de forma individual, el índice de forma de cada fruto a partir de la siguiente relación:

$$I_{FF} = \frac{L_{mf}}{A_{mf}}$$

donde:

'I<sub>FF</sub>' es el índice de forma del fruto

'L<sub>mf</sub>' es la longitud máxima del fruto en mm

'A<sub>mf</sub>' es la anchura máxima del fruto en mm

Con el total de datos obtenidos en este apartado se procedió al cálculo del índice de forma medio del fruto, aplicando la fórmula siguiente:

$$I_{FMF} = \frac{\sum I_{FF}}{N_f}$$

donde:

‘ $I_{FMF}$ ’ es el índice de forma medio del fruto

‘ $I_{FF}$ ’ es el índice de forma de los frutos individualmente

‘ $N_f$ ’ es el número total de frutos

#### 4.-Índice de forma de hueso.-

Para medir este parámetro, se deshuesó la misma muestra de 50 aceitunas utilizada en el apartado anterior (*Índice de forma de fruto*), siguiendo el mismo procedimiento descrito en la determinación de la relación pulpa-hueso, excepto el punto cinco. A continuación, se procedió a medir la longitud y anchura máxima de cada uno de ellos, con un calibre digital (Figura 10f). Por último, para todas las campañas y genotipos, se determinó el índice de forma del hueso aplicando la fórmula siguiente:

$$I_{FH} = \frac{L_{mh}}{A_{mh}}$$

donde:

‘ $I_{FH}$ ’ es el índice de forma del hueso

‘ $L_{mh}$ ’ es la longitud máxima del hueso en mm

‘ $A_{mh}$ ’ es la anchura máxima del hueso en mm

Con el total de datos obtenidos en este apartado se procedió al cálculo del índice de forma medio del hueso, aplicando la fórmula siguiente:

$$I_{FMH} = \frac{\sum I_{FH}}{N_h}$$

donde:

‘ $I_{FMH}$ ’ es el índice de forma medio del hueso

‘ $I_{FF}$ ’ es el índice de forma de los huesos individualmente

‘ $N_h$ ’ es el número total de huesos

La evaluación de este parámetro se realizó igual para todas las campañas, excepto por la cantidad de muestra utilizada. Para la campaña 2009, no se utilizó la misma muestra de 50 frutos empleada para el cálculo del índice de forma de los frutos, sino que se evaluó en 50 frutos procedentes de la submuestra de 0,5 kg (Figura 9). Una vez descongelados y deshuesados los frutos se realizaron los mismos cálculos, descritos anteriormente.



**Figura 10.-** Evaluación de parámetros medidos en campo y en el laboratorio de la ETSIA: recolección manual de los genotipos en campo (a); peso exacto de la muestra, mediante balanza de precisión en el laboratorio (b); deshuesado manual (sólo campaña 2006) (c); deshuesado de los frutos mediante un mazo de goma (campañas 2007, 2008 y 2009) (d); medición de la longitud máxima de un fruto, mediante un calibre digital (e) y medición de la longitud máxima de un hueso mediante un calibre digital (f).



##### 5.- Índice de madurez.-

Para la evaluación del índice de madurez se utilizó la misma submuestra de 50 frutos empleada para el índice de forma del fruto y antes de congelar la muestra, según la siguiente metodología:

- 1.- Los 50 frutos fueron clasificados en ocho categorías, descritas por Ferreira (1979) e indicadas en la tabla 7.
- 2.- Una vez que las aceitunas estuvieron separadas por categorías, se procedió a contabilizarlas y se calculó el índice de madurez, mediante la siguiente fórmula:

$$IM = \frac{(Ax0 + Bx1 + Cx2 + Dx3 + Ex4 + Fx5 + Gx6 + Hx7)}{50}$$

donde:

‘IM’ es el índice de madurez

‘A’, ‘B’, ‘C’, ‘D’, ‘E’, ‘F’, ‘G’, ‘H’ es el número de frutos de las categorías 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7, respectivamente.

El índice de madurez puede estar comprendido entre 0 (todos los frutos de color verde intenso) y 7 (todos los frutos con la piel negra y la pulpa morada hasta el hueso). Debido a que las muestras para aceituna de mesa “estilo sevillano” se recogen en verde (frutos con categorías 0, 1 y 2), los índices de madurez obtenidos en la mayoría de los genotipos presentaron valores entre 0 y 2.

**Tabla 7.-** Descripción de las categorías de aceitunas empleadas para el cálculo del índice de madurez (Ferreira, 1979).

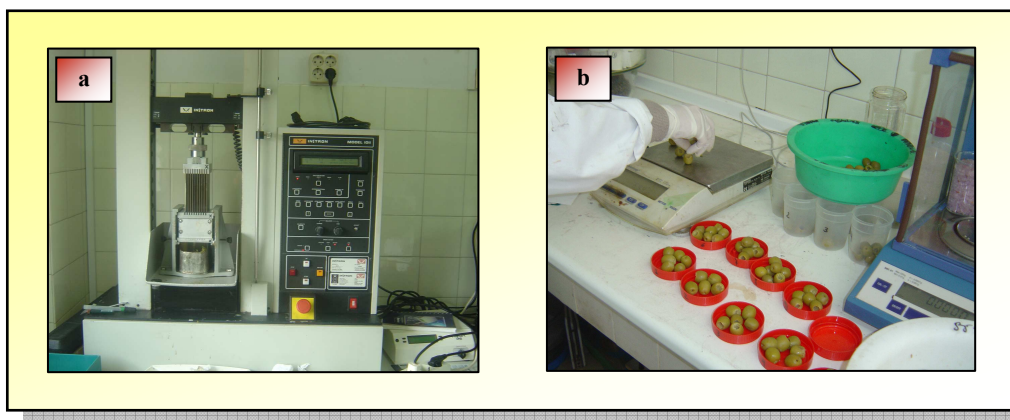
<b>Clase 0</b>	Piel verde intensa
<b>Clase 1</b>	Piel verde amarillenta
<b>Clase 2</b>	Piel verde con manchas rojizas en menos de la mitad del fruto. Inicio de envero
<b>Clase 3</b>	Piel rojiza o morada en más de la mitad del fruto. Final del envero
<b>Clase 4</b>	Piel negra y pulpa blanca
<b>Clase 5</b>	Piel negra y pulpa morada sin llegar a la mitad de la pulpa
<b>Clase 6</b>	Piel negra y pulpa morada sin llegar al hueso
<b>Clase 7</b>	Piel negra y pulpa morada totalmente hasta el hueso

#### 6.- Textura de la pulpa.-

La determinación de este parámetro se llevó a cabo en el Instituto de la Grasa (CSIC) de Sevilla. Se determinó con un texturómetro (**Instron Modelo 1011**), equipado con una célula de compresión-cizallamiento (Figura 11a). La velocidad de trabajo fue de 200 mm/min y la escala de fuerza de 0 a 500 N.

Para cada genotipo y campaña se utilizó una submuestra de 0,5 kg de aceitunas completamente verdes y deshuesadas. Para cada genotipo, se midieron 10 repeticiones de dos a cuatro frutos cada una (Figura 11b). Previamente, se anotó el peso de cada una de las repeticiones. Los resultados se expresaron en KN/100g de fruto deshuesado.

**Figura 11.-** Texturómetro (**Instron Modelo 1011**) utilizado para la evaluación de la textura de la pulpa de los genotipos (a). Detalle de una balanza de precisión, donde puede visualizar el peso de una de las muestras, procedente del genotipo 02-16 ('Manzanilla Libre') para la campaña 2006 (b).



#### 7.- Rendimiento graso (sobre peso fresco y sobre peso seco) y humedad.-

La determinación de estos parámetros se realizó en el Laboratorio Agroalimentario de Córdoba (Consejería de Agricultura, Pesca y Medioambiente), a partir de muestras de aceitunas de 0,5 kg, aproximadamente. Los métodos empleados fueron: RMN contrastado por el método Soxhlet para el rendimiento graso (%) y método gravimétrico para la humedad (%).

Una vez obtenido el parámetro rendimiento graso sobre peso fresco, se determinó el equivalente sobre peso seco:

$$RTO_s = \frac{RTO_F}{1 - \left( \frac{HUM}{100} \right)}$$

donde:

'RTO<sub>s</sub>' es el rendimiento graso sobre peso seco (%)

'RTO<sub>F</sub>' es el rendimiento graso sobre peso fresco (%)

'HUM' es la humedad de la muestra (%)

#### 1.1.2.2.- Análisis estadístico.-

Los datos obtenidos en los diferentes años (2006, 2007, 2008 y 2009) se han analizado con el programa informático **StatGraphics Plus V. 5. 1.**

Para cada año y parámetro evaluado se ha estudiado la variabilidad (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) y se han obtenido histogramas de frecuencia. Asimismo, para cada parámetro, se han realizado otros histogramas de frecuencia, considerando la población de datos de todos los años.

Para el parámetro producción (g/genotipo), se han elaborado histogramas de frecuencia no sólo para la producción por años, sino también para la producción acumulada de los

tres primeros años (2006, 2007 y 2008) y la obtenida por cada cosecha (primera, segunda, tercera y cuarta).

Para los 14 parámetros analizados se ha calculado la repetibilidad (**R**) considerando solo aquellos genotipos con datos disponibles en los tres primeros años (2006, 2007, 2008) (**Diseño equilibrado**). Se ha realizado un análisis de varianza (**ANOVA**), obteniéndose una descomposición de la varianza entre: genotipo, año y residual. Se ha indicado además, la frecuencia y el coeficiente de variación (%). En los casos oportunos, se ha realizado una separación de medias por el **Test Tukey HSD** ( $P \leq 0,05$ ). El modelo lineal aditivo utilizado para este análisis estadístico fue:

$$P_{ij} = \mu + g_i + y_j + e_{ij}$$

donde:

‘ $P_{ij}$ ’ es el valor fenotípico del genotipo i en el año j

‘ $\mu$ ’ es el valor medio

‘ $g_i$ ’ es el efecto del genotipo i

‘ $y_j$ ’ es el efecto del año j

‘ $e_{ij}$ ’ es el efecto residual (incluye interacción genotipo x año y otros efectos no explicados)

Este modelo proporciona los siguientes cuadrados medios esperados:

Fuentes de variación	Grados de libertad	Cuadrado medio esperado
<b>Genotipos</b>	g-1	$\sigma^2_E + a\sigma^2_G$
<b>Año</b>	a-1	$\sigma^2_E + g\sigma^2_A$
<b>Residual</b>	(g-1) (a-1)	$\sigma^2_E$
<b>Total</b>	(g a)-1	-

donde:

‘g’ número de genotipo estudiados

‘a’ años estudiados

A partir de este modelo, se ha calculado la repetibilidad (**R**) y que ha sido estimada como:

$$R = \frac{\sigma^2_G}{\left( \sigma^2_G + \frac{\sigma^2_e}{n} \right)}$$

donde:

‘R’ es la repetibilidad

‘ $\sigma^2_G$ ’ es la varianza entre genotipos

‘ $\sigma^2_e$ ’ es la varianza del error

‘n’ es el número de años evaluados

Para el conjunto de parámetros y años (2006, 2007, 2008 y 2009) analizados (**Diseño no equilibrado**), se ha elaborado un gráfico con el porcentaje de la suma de cuadrados (%), reflejándose la partición entre: cruzamiento, genotipos dentro del cruzamiento, año y residual. En este caso el modelo lineal aditivo utilizado fue:

$$P_{ikj} = \mu + \delta_k + g(\delta)_{i(k)} + \gamma_j + \varepsilon_{ikj}$$

donde:

‘ $P_{ikj}$ ’ es el valor fenotípico del genotipo i perteneciente al cruzamiento k del año j

‘ $\mu$ ’ es el valor medio

‘ $\delta_k$ ’ es el efecto del cruzamiento k

‘ $g(\delta)_{i(k)}$ ’ es el efecto del genotipo i en el cruzamiento k

‘ $\gamma_j$ ’ es el efecto del año j

‘ $\varepsilon_{ikj}$ ’ es el efecto residual del genotipo i perteneciente al cruzamiento k del año j

Para todos los parámetros se ha efectuado el análisis de la varianza (ANOVA) con comparación de medias por cruzamientos y por progenitor (masculino (♂) y femenino (♀)). En todos los casos, la separación de medias se ha realizado por el **Test Tukey HSD** ( $P \leq 0,05$ ), indicándose en cada caso la frecuencia de los datos y el coeficiente de variación (%). Para estos análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (**Diseño equilibrado**).

En el caso de los cruzamientos A x M (‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’) y M x A (‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’), utilizando el conjunto de datos de todos los años 2007 y 2008 (**Diseño equilibrado**), se han realizado para cada parámetro análisis de la varianza (ANOVA) con comparación y separación de medias por el **Test Tukey HSD** ( $P \leq 0,05$ ).

### 1.1.3.- RESULTADOS.-

#### 1.1.3.1.- Variabilidad observada en la progenie.-

##### 1.1.3.1.1.- Producción.-

A diferencia de los demás parámetros, la *producción* se evaluó durante tres años (2006, 2007 y 2008). Sin embargo, cuando se analizaron las diferentes cosechas por árbol, se tuvo en cuenta la producción del 2005, en la que fructificaron muy pocos genotipos y con muy poca carga por árbol.

Los histogramas de frecuencia para el parámetro *producción* (g/genotipo), junto con las diferentes cosechas obtenidas de la progenie se representan en las figuras 12 y 13. En la tabla 8 se recoge el resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficientes de variación) para la *producción*, en los tres años evaluados (2006, 2007 y 2008), *producción acumulada* y conjunto de todos los años. La *producción acumulada* para un genotipo, se determinó como la suma de las producciones para todos los años analizados (2006, 2007 y 2008). En los histogramas de frecuencia de cada parámetro y periodo evaluado, se han representado también los valores de los progenitores. En algunos casos, no se disponía de datos para todos ellos.

Los correspondientes valores para las cuatro cosechas evaluadas (primera, segunda, tercera y cuarta), se muestran en la tabla 9. Para un determinado genotipo, se consideró primera cosecha al año (2005, 2006, 2007 ó 2008) en que se obtuvo por primera vez producción. Para ese mismo genotipo, la segunda cosecha fue establecida en el segundo año de producción y así sucesivamente, hasta la cuarta cosecha evaluada.

Para todos los periodos considerados en este trabajo, se ha observado una alta variabilidad entre los genotipos, tanto para el carácter *producción* como para las diferentes cosechas analizadas. En la *producción* de los tres años evaluados, la progenie ha alcanzado valores máximos y mínimos comprendidos entre: 35.080,00 g/genotipo y 4,10 g/genotipo, ambos para el año 2008. Estos resultados coinciden con la primera (valor mínimo) y segunda cosecha (valor máximo) (Tabla 9). Si observamos en la tabla 8 la *producción acumulada* de los tres años, el valor máximo alcanzado por la progenie casi se duplica (63.465,00 g/genotipo), manteniéndose el valor mínimo en 4,10 g/genotipo.

Esta alta variabilidad también se ha visto reflejada en la variación del rango intercuartílico del 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) para los diferentes genotipos y años estudiados: 2006 (405,00-3.031,00 g/genotipo), 2007 (2.500,00-13.150,00 g/genotipo), 2008 (4.540,00-19.440,00 g/genotipo), *producción acumulada* (4.563,00-30.339,00 g/genotipo) y el conjunto de todos los años (1.511,50-

15.080,00 g/genotipo). Los correspondientes valores para el 50% de la población en las cuatro cosechas, han presentado también una alta variabilidad: 179,40-4.135,00 g/genotipo (primera cosecha), 6.120,00-16.730,00 g/genotipo (segunda cosecha), 11.860,00-21.760,00 g/genotipo (tercera cosecha) y 13.240,00-19.340,00 g/genotipo (cuarta cosecha).

Los altos coeficientes de variación obtenidos para el parámetro *producción* se encuentran comprendidos entre: 106,08% (año 2006) y 70,76% (año 2008). Si comparamos estos resultados con los obtenidos por cosecha, en la primera de ellas ha presentado un valor superior (139,67%) y en cambio para la cuarta cosecha ha resultado ser inferior (33,26%).

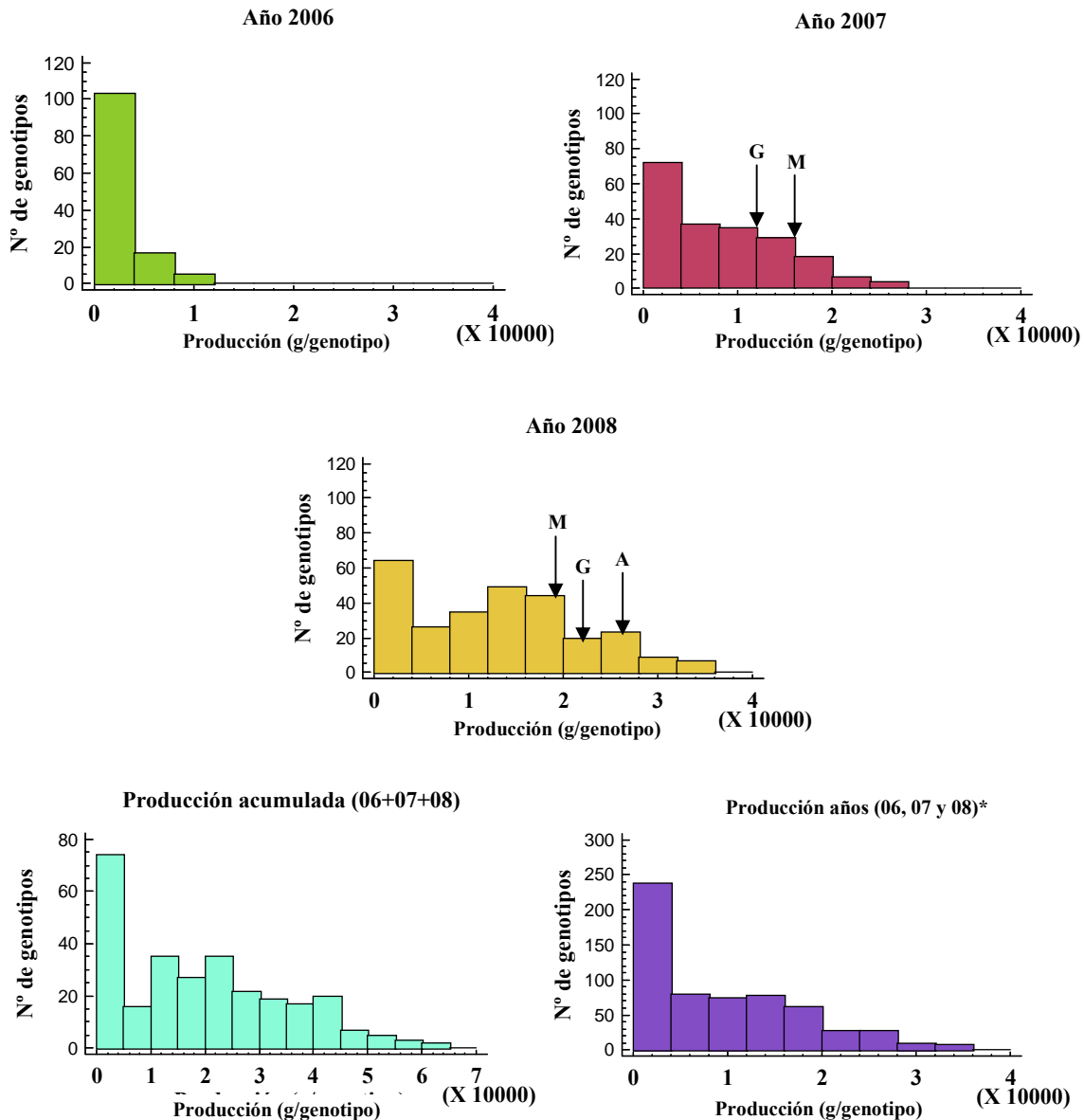
En el año 2006, las distribuciones obtenidas para el parámetro *producción* no se han ajustado a una normal. Los coeficientes analizados (asimetría y curtosis estandarizadas) no estaban dentro del rango esperado para una distribución normal. Para los valores de *producción* del año 2007, *producción acumulada* y el conjunto de todos los años, sólo el coeficiente de curtosis quedaba dentro de ese rango y para el año 2008, sólo el de asimetría.

Las distribuciones obtenidas para la tercera y cuarta cosecha sí han sido normales, ya que ambos coeficientes se ajustaban al rango esperado para una distribución normal. Por el contrario, para el histograma de frecuencia de la primera cosecha, ninguno de los coeficientes estaba en rango. Sólo el coeficiente de curtosis se encontraba en rango para la segunda de las cosechas evaluadas.

Para los años con datos disponibles de los progenitores evaluados en la misma parcela (2007, 2008 y el conjunto de todos los años), la *producción* media de la progenie ha resultado ser inferior a la de éstos. Los resultados fueron previsibles puesto que, los árboles correspondientes a los progenitores procedían de material adulto propagados mediante estaquillas.



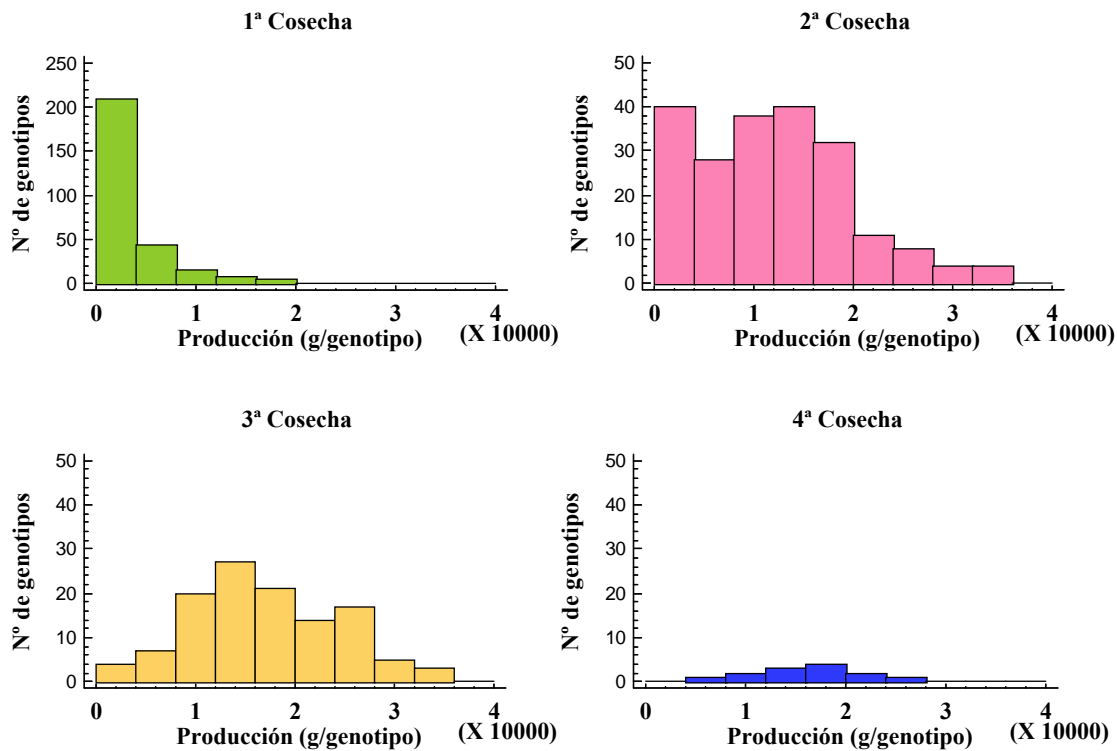
**Figura 12.-** Histogramas de frecuencia de producción (g/genotipo) por año (2006, 2007, 2008) y producción acumulada para los tres años: **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 8.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro producción (g/genotipo) para los diferentes años, producción acumulada y \* considerando la población de datos de todos los años.

PRODUCCIÓN (g/genotipo)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	125	2.172,56	1.387,00	10.701,00	35,90	106,08
2007	202	8.201,65	6.875,00	27.550,00	23,00	81,89
2008	277	12.999,30	12.920,00	35.080,00	4,10	70,76
Acumulada	282	19.606,00	18.550,00	63.465,00	4,10	79,82
2006/2007/2008*	604	9.154,17	6.875,00	35.080,00	4,10	92,73



**Figura 13.-** Histogramas de frecuencia por cosechas para el parámetro producción (g/genotipo).**Tabla 9.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) por cosecha para el parámetro producción (g/genotipo).

PRODUCCIÓN (g/genotipo)						
Cosechas	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
1ª Cosecha	282	2.949,95	1.256,50	24.140,00	4,10	139,67
2ª Cosecha	205	12.083,30	11.580,00	35.080,00	6,82	65,39
3ª Cosecha	118	17.028,30	16.510,00	33.700,00	1320,00	42,48
4ª Cosecha	13	16.360,80	17.010,00	27.240,00	7720,00	33,26

## 1.1.3.1.2.- Peso del fruto.-

Los histogramas de frecuencia para el parámetro *peso del fruto* (g) se representan en la figura 14. En la tabla 10 se recoge el resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficientes de variación) para dicho carácter en los cuatro años evaluados (2006, 2007, 2008 y 2009) y para el conjunto de datos.

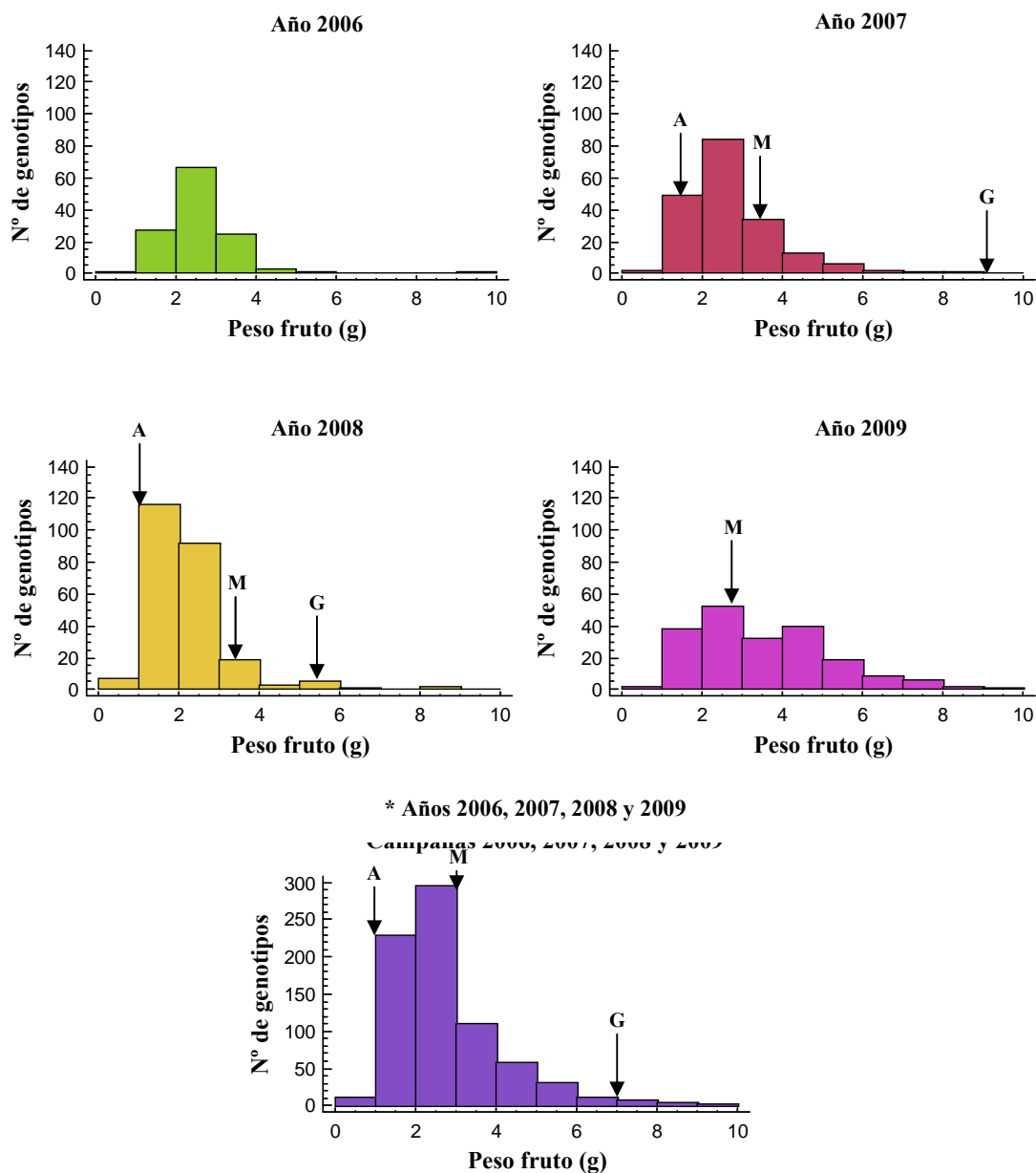
Para este carácter, se ha observado una alta variabilidad entre los genotipos, presentando un valor máximo de 10,40 g y un mínimo de 0,70 g, ambos para el año 2008. La variación del rango intercuartílico (diferencia entre el primer y tercer cuartil), que representa el 50% de la población, ha sido similar para los años 2007 (1,98-3,14 g) y para el conjunto de datos (1,85-3,15 g). Los valores obtenidos para 2006 (2,03-2,94 g) y 2008 (1,55-2,48 g) también han presentado cierta analogía, aunque cuando se compara el año 2006 con el 2008 existe una variación 0,50 g en el valor de los respectivos cuartiles. Los valores de 2009 fueron claramente superiores al resto de años, tanto en el valor de los cuartiles, como del rango intercuartílico (2,23-4,56 g).

Los coeficientes de variación obtenidos para este parámetro han sido altos, con valores comprendidos entre 52,85% para el 2008 y 37,26% para el año 2006.

Las distribuciones obtenidas en cada uno de los años evaluados y población total, no se han ajustado a una normal. Ambos coeficientes (asimetría y curtosis estandarizadas) no se encontraban dentro del rango esperado para una distribución normal. Destacar que, para el año 2009 sólo el coeficiente de curtosis quedaba dentro del rango esperado.

Los valores medios alcanzados por la progenie fueron siempre superiores a los obtenidos por el cultivar Arbequina e inferiores a ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Gordal Sevillana’, excepto para el año 2009 y el conjunto de todos los años, en el que la media de los genotipos superó también a la variedad Manzanilla de Sevilla.

**Figura 14.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro peso del fruto (g): M, A y G, representan los valores de este parámetro para los progenitores (M: ‘Manzanilla de Sevilla’, A: ‘Arbequina’, G: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 10.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro peso del fruto (g) para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

PESO DEL FRUTO (g)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	125	2,57	2,43	9,18	0,97	37,26
2007	192	2,72	2,51	8,33	0,86	41,50
2008	246	2,22	2,01	10,40	0,70	52,85
2009	201	3,54	3,13	9,58	0,83	48,03
Años 2006/07/08/09*	764	2,75	2,40	10,40	0,70	50,45

#### 1.1.3.1.3.- Relación pulpa-hueso.-

En la figura 15 se muestran los histogramas de frecuencia obtenidos para el parámetro *relación pulpa-hueso*, en los cuatro años evaluados y para el conjunto de todos los años. En la tabla 11 se recogen además, los datos de frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficientes de variación para este carácter en los diferentes años y el total de años analizados.

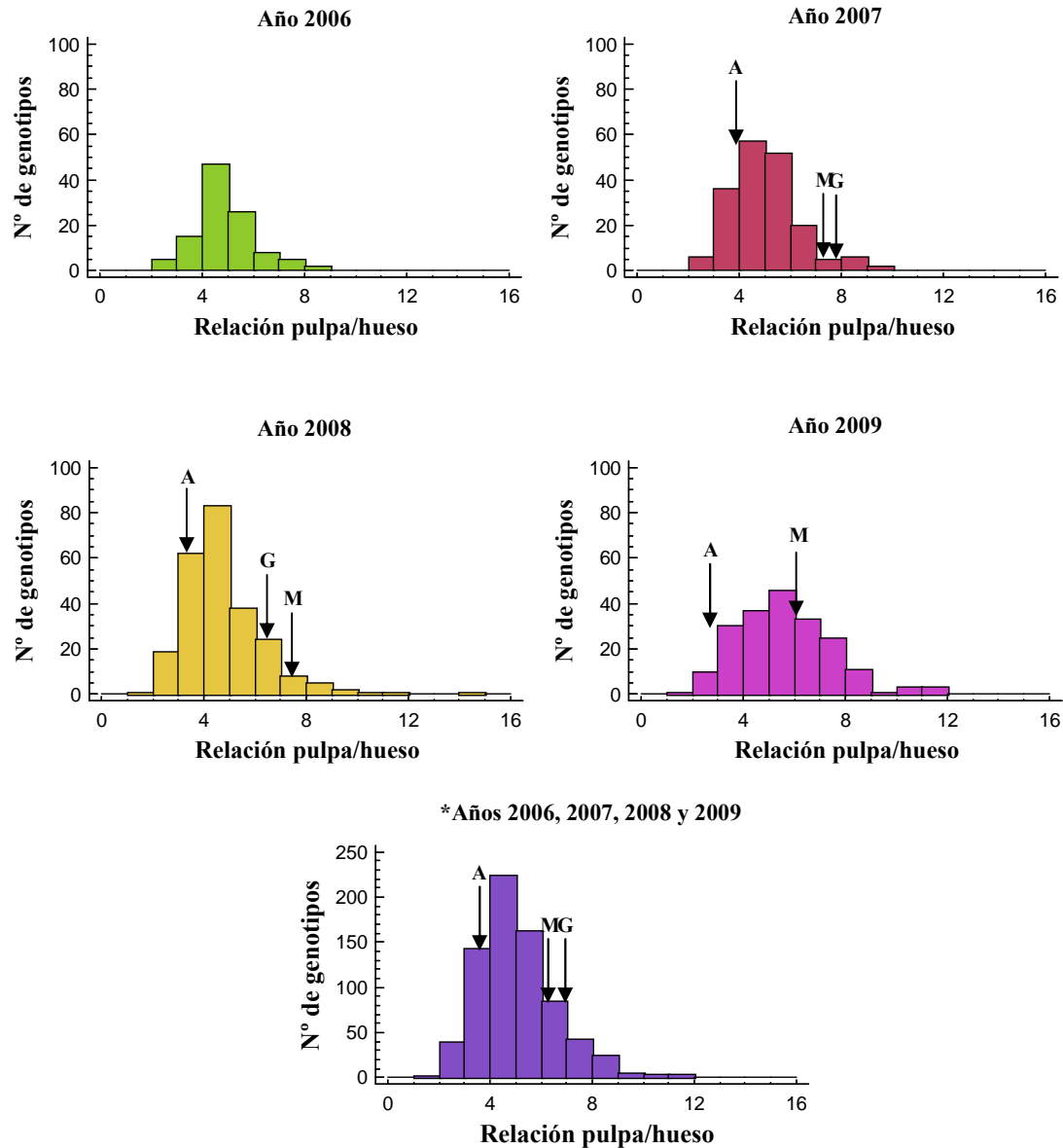
Al igual que para el *peso del fruto*, se ha encontrado una alta variabilidad entre los genotipos evaluados (Tabla 11). Los valores máximos y mínimos de pulpa-hueso obtenidos por la progenie, se encuentran muy distanciados entre sí: 14,60 (2008) y 1,73 (2009). Por el contrario, la variación del rango intercuartílico para el 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) ha sido similar para los años 2006 (4,26-5,52), 2007 (4,07-5,65), 2008 (3,62-5,36) y para el conjunto de todos los años (4,00-5,86). La excepción ha resultado ser para el año 2009, cuyos valores han sido superiores al resto (4,19-6,81).

Los coeficientes de variación alcanzados para este parámetro están comprendidos entre 23,24% (2006) y 34,08% (2008). Estos han resultado ser inferiores a los obtenidos para *peso del fruto* (Tabla 10) y *producción* (Tablas 8 y 9), pero lo suficientemente amplios para permitir la selección de individuos dentro de un programa de mejora.

En la mayoría de los histogramas los coeficientes analizados (asimetría y curtosis estandarizadas) no se encontraban dentro del rango esperado para una distribución normal. Por el contrario, en el histograma de frecuencia obtenido para los genotipos del año 2006, sólo el coeficiente de curtosis se ajustaba al rango.

Para la *relación pulpa-hueso* los valores medios alcanzados por la progenie, fueron siempre superiores a los obtenidos por el cultivar Arbequina e inferiores a ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Gordal Sevillana’, en los años con datos disponibles.

**Figura 15.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro relación pulpa-hueso: **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 11.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro relación pulpa-hueso para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

RELACIÓN PULPA-HUESO						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	108	4,90	4,75	8,20	2,49	23,24
2007	184	5,03	4,87	9,78	2,28	26,19
2008	245	4,74	4,57	14,60	2,00	34,08
2009	200	5,62	5,46	11,97	1,73	32,59
Años 2006/07/08/09*	737	5,08	4,84	14,60	1,73	31,25

#### 1.1.3.1.4.- Longitud del fruto.-

Los histogramas de frecuencia obtenidos por años y conjunto de todos los años para el parámetro *longitud del fruto* (mm) se muestran en la figura 16. El resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para los diferentes años y considerando la población de datos de todos los años se puede observar en la tabla 12.

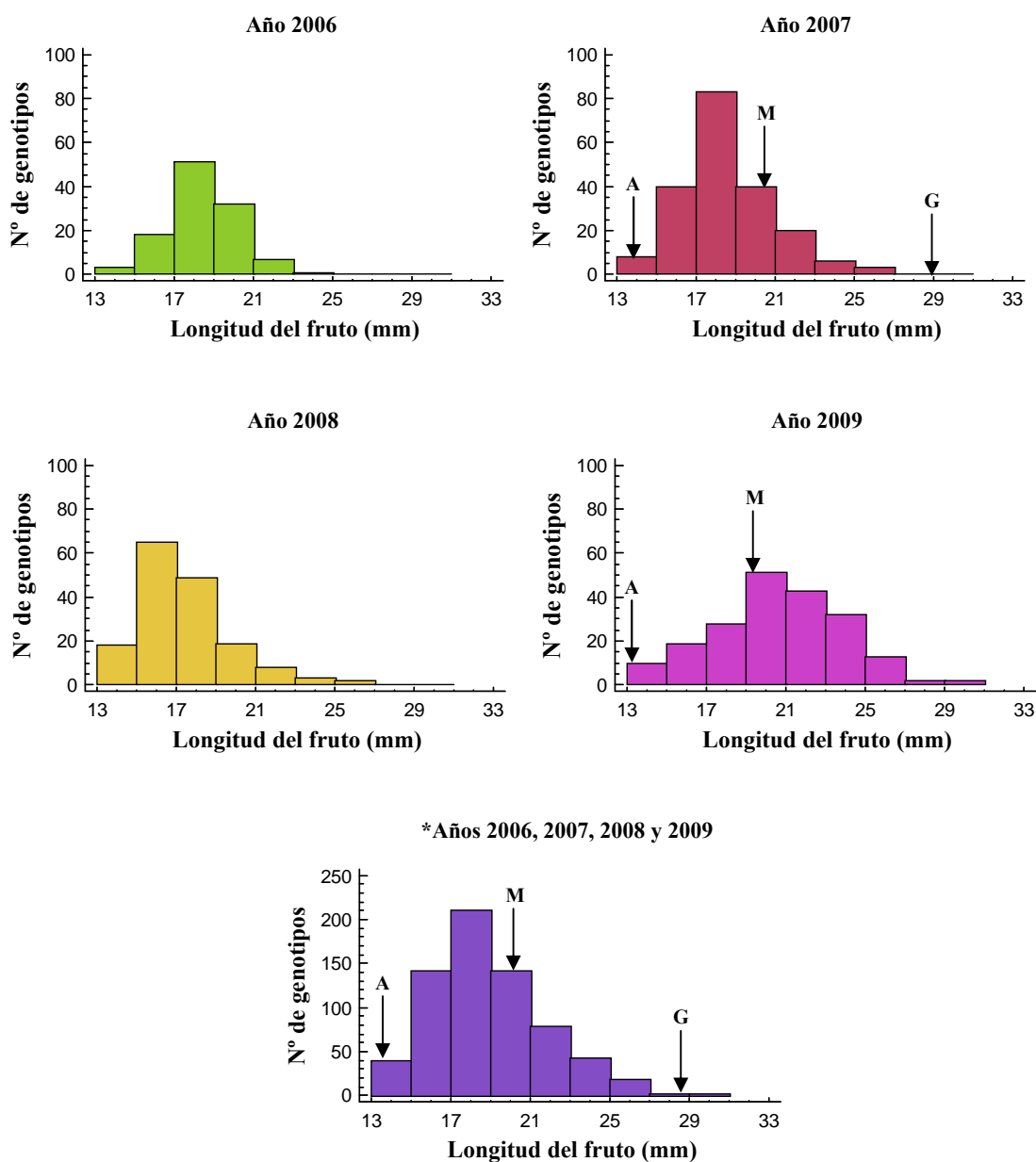
Al igual que resto de parámetros comentados anteriormente (*producción, peso del fruto y relación pulpa-hueso*), se ha encontrado una cierta variabilidad en los resultados obtenidos, aunque con coeficientes de variación menores, comprendidos entre 9,83% (2006) y 15,82% (2009). Los valores máximos y mínimos para la *longitud del fruto* en los diferentes genotipos y años evaluados han sido: 30,18 mm para el año 2009 y 13,03 mm para el año 2007.

La variabilidad obtenida para este parámetro también se refleja en la variación del rango intercuartílico del 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil). Para los años 2006 (17,17-19,34 mm), 2007 (17,09-19,67 mm) y 2008 (15,93-18,56 mm) han resultado tener un rango intercuartílico similar, coincidiendo también los dos primeros años en el valor de los cuartiles. Para el año 2009 (18,37-22,99 mm) y el conjunto de datos de todos los años (16,88-20,50 mm) se alcanzaron valores superiores en los respectivos cuartiles y rango intercuartílico, para los diferentes genotipos evaluados.

Para este carácter los histogramas realizados en los años 2006 y 2009 se ajustaron a una distribución normal, los otros dos no.

Para el carácter *longitud del fruto* (Figura 16), los valores medios alcanzados por la progenie fueron siempre superiores a los obtenidos por el cultivar Arbequina e inferiores a ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Gordal Sevillana’, excepto para el año 2009 en el que la media de los genotipos superó también a la variedad Manzanilla de Sevilla.

**Figura 16.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro longitud del fruto (mm): M, A y G, representan los valores de este parámetro para los progenitores (M: ‘Manzanilla de Sevilla’, A: ‘Arbequina’, G: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 12.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro longitud del fruto (mm) para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

LONGITUD DEL FRUTO (mm)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	112	18,37	18,25	24,45	13,90	9,83
2007	200	18,55	18,41	26,15	13,03	12,64
2008	164	17,43	16,97	26,98	13,09	13,15
2009	200	20,67	20,82	30,18	13,76	15,82
Años 2006/07/08/09*	676	18,88	18,49	30,18	13,03	15,09

#### 1.1.3.1.5.- Anchura del fruto.-

Los histogramas de frecuencia obtenidos para el parámetro *anchura del fruto* (mm) por año y para el conjunto de todos los años se representan en la figura 17. En la tabla 13 se recoge además, el resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficientes de variación) para este mismo carácter en los cuatro años evaluados y para el conjunto de todos los años.

Para el parámetro *anchura del fruto*, se ha observado una alta variabilidad entre los genotipos evaluados. Al igual que para el parámetro *relación pulpa-hueso* (Tabla 11), el valor máximo (25,12 mm) y mínimo (9,56 mm), ambos pertenecientes al año 2008, están muy distanciados entre sí. Para el resto de años y conjunto de todos los años, los valores máximos y mínimos de los diferentes genotipos analizados han resultado similares.

Se ha encontrado una alta variabilidad en el rango intercuartílico del 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) para la *anchura del fruto* en los distintos años de estudio: 2006 (14,50-16,34 mm), 2007 (14,24-16,57 mm), 2008 (13,26-15,80 mm) y 2009 (14,66-18,85 mm). Cabe destacar que, para todos los periodos considerados los valores obtenidos para el primer cuartil han sido similares, con una diferencia de 1,40 mm.

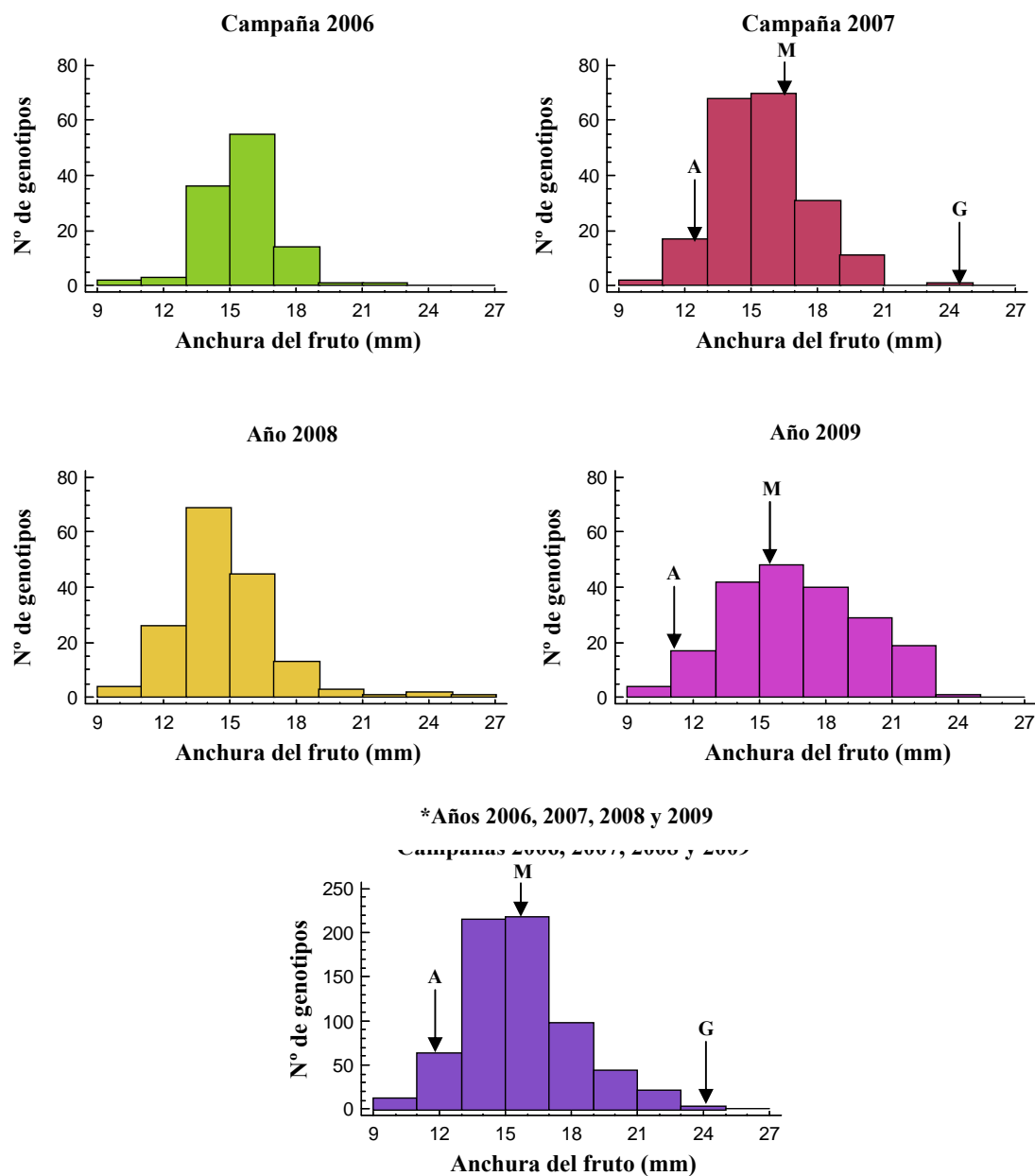
Los coeficientes de variación obtenidos por los genotipos en los diferentes años de estudio han presentado valores comprendidos entre 10,77% (2006) y 17,49% (2009). Aunque estos valores han sido algo inferiores que el resto de parámetros, citados anteriormente (*producción* (Tabla 8), *peso del fruto* (Tabla 10) y *relación pulpa-hueso* (Tabla 11)), son suficientemente altos para poder seleccionar genotipos dentro del programa de mejora de aceituna de mesa.

La distribución ha sido normal en el año 2009 (Figura 17). Los histogramas de frecuencia del año 2006 y del 2007 se ajustaban parcialmente a una distribución normal (sólo el coeficiente de asimetría y sólo el de curtosis estandarizado, respectivamente). El histograma de 2008 no se ajustó a una normal.

Al igual que la *longitud del fruto* (Figura 16), los valores medios alcanzados por la progenie para *anchura del fruto* fueron siempre superiores a los obtenidos por el cultivar Arbequina e inferiores a ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Gordal Sevillana’, excepto para el año 2009 en el que la media de los genotipos superó también a la variedad Manzanilla de Sevilla.



**Figura 17.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro anchura del fruto (mm): M, A y G, representan los valores de este parámetro para los progenitores (M: ‘Manzanilla de Sevilla’, A: ‘Arbequina’, G: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 13.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro anchura del fruto (mm) para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

ANCHURA DEL FRUTO (mm)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	112	15,46	15,42	21,73	10,83	10,77
2007	200	15,51	15,36	23,13	9,98	13,55
2008	164	14,80	14,67	25,12	9,56	15,59
2009	200	16,76	16,33	23,70	10,01	17,49
Años 2006/07/08/09*	676	15,70	15,40	25,12	9,56	15,77

## 1.1.3.1.6.- Índice de forma del fruto.-

En la figura 18 se muestran los histogramas de frecuencia obtenidos para el parámetro *índice de forma del fruto*, para los cuatro años analizados y para el conjunto de población de todos los años. El resumen estadístico para el *índice de forma del fruto* (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para cada uno de los años y la población total del conjunto de años, se muestra en la tabla 14.

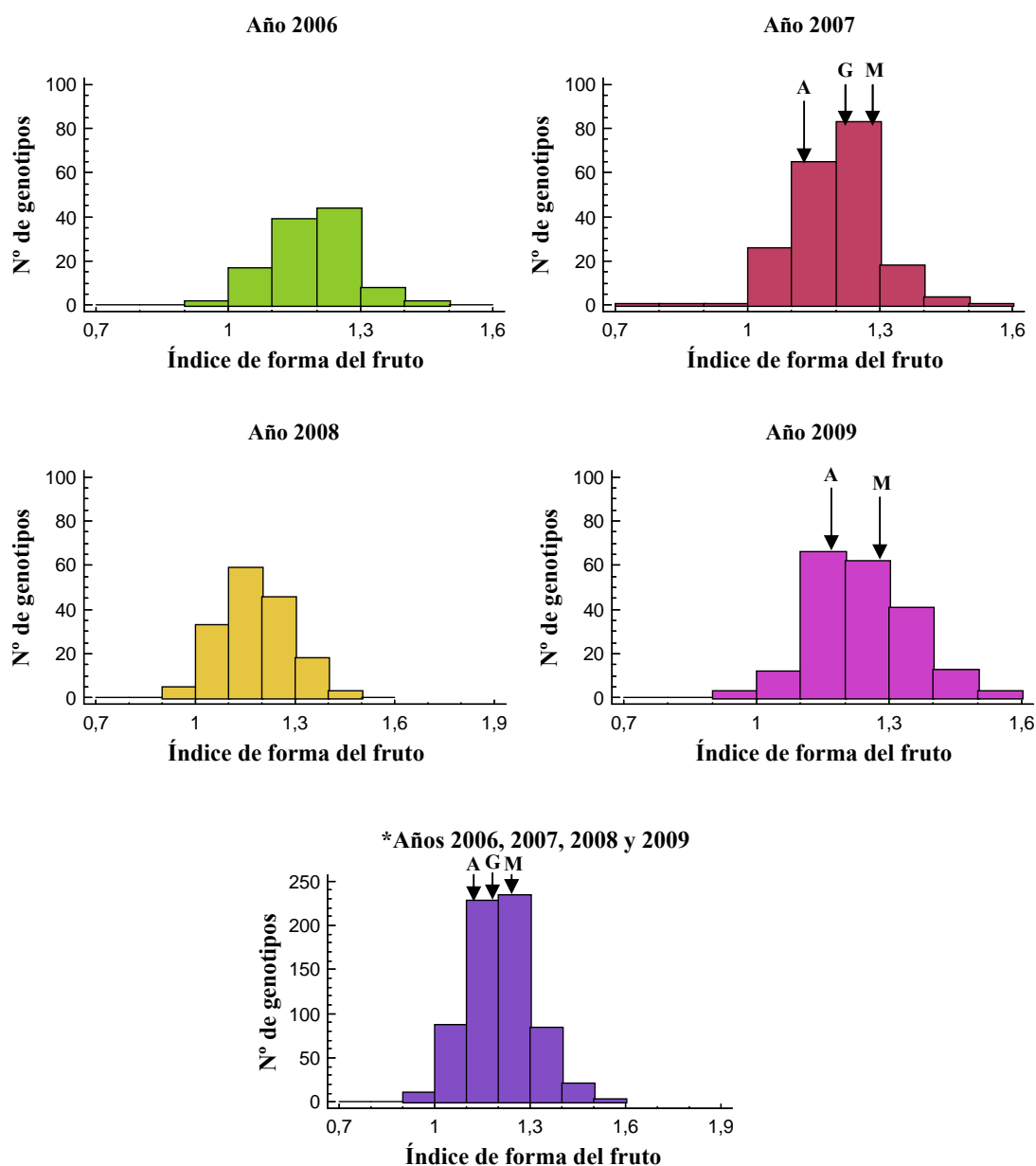
Como se puede observar se ha encontrado, para este carácter, una alta variabilidad entre los valores obtenidos por los genotipos evaluados. El valor mínimo del *índice de forma del fruto* para los diferentes genotipos ha sido de 0,76, obtenido para el año 2007, y el valor máximo alcanzado en el año 2009 ha resultado ser de 1,55. Tanto la variación del rango intercuartílico del 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) como el valor de los cuartiles, varía en menos de una décima para los periodos considerados: 2006 (1,13-1,25), 2007 (1,14-1,26), 2008 (1,11-1,26), 2009 (1,17-1,31) y para todos los años (1,14-1,27).

Los coeficientes de variación (%) obtenidos para este parámetro han resultado ser inferiores que el resto de caracteres, hasta ahora comentados (*producción* (Tabla 8), *peso del fruto* (Tabla 10), *relación pulpa-hueso* (Tabla 11), *longitud del fruto* (Tabla 12) y *anchura del fruto* (Tabla 13)). Los valores oscilan entre el 7,66% para 2006 y el 8,72% para 2009. Como se pudo comprobar, la diferencia entre ambos es de apenas un 1,06%.

Las distribuciones de frecuencia han resultado ser normales para los años 2006, 2008 y 2009, encontrándose los coeficientes analizados (asimetría y curtosis estandarizada) dentro del rango esperado. Para el conjunto de todos los años, el único valor que se ajustaba al rango de una distribución normal ha sido el coeficiente de asimetría. El histograma de frecuencia del año 2007, no se ajustó a la normalidad.

Para el carácter *índice de forma del fruto* los valores medios alcanzados por la progenie, fueron siempre superiores a los obtenidos por el cultivar Arbequina e inferiores a ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Gordal Sevillana’.

**Figura 18.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de forma del fruto: M, A y G, representan los valores de este parámetro para los progenitores (M: ‘Manzanilla de Sevilla’, A: ‘Arbequina’, G: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 14.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de forma del fruto para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

ÍNDICE DE FORMA DEL FRUTO						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	112	1,19	1,20	1,46	0,92	7,66
2007	200	1,20	1,21	1,52	0,76	8,25
2008	164	1,19	1,19	1,50	0,95	8,62
2009	200	1,24	1,23	1,55	0,93	8,72
Años 2006/07/08/09*	676	1,21	1,21	1,55	0,76	8,58

## 1.1.3.1.7.- Longitud del hueso.-

Los histogramas de frecuencia para la *longitud del hueso* (mm) por años y para el conjunto de todos los años se representan en la figura 19. En la tabla 15 se recoge el resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficientes de variación) para este parámetro en los cuatro años evaluados y para el conjunto de datos.

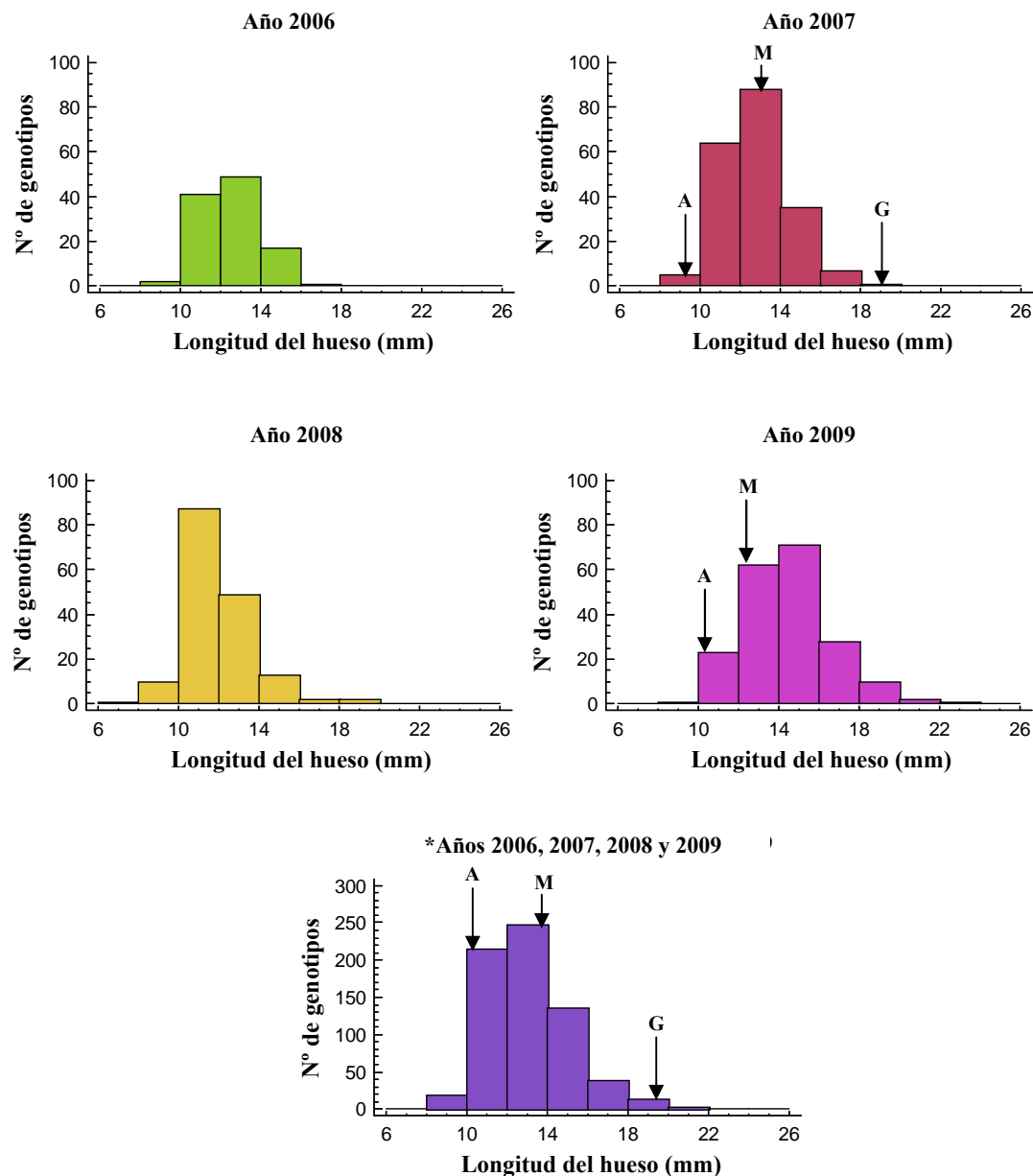
Para este carácter, se ha observado una alta variabilidad entre los genotipos analizados, presentando un valor mínimo de 7,21 mm para el año 2007 y un máximo de 23,27 mm para 2009. Esta alta variabilidad también se ha visto reflejada en el rango intercuartílico del 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) para los distintos genotipos: 2006 (11,61-13,52 mm), 2007 (11,59-13,84 mm), 2008 (10,80-12,69 mm), 2009 (12,89-15,70 mm) y el conjunto de todos los años (11,57-14,17 mm).

Los coeficientes de variación, obtenidos para este carácter, han presentado valores comprendidos entre 11,07% para el año 2006 y 15,16% para el 2009.

Como se puede observar, los histogramas de frecuencia han resultado ser normales para el año 2006, encontrándose los coeficientes analizados (asimetría y curtosis estandarizada) dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Para 2007, sólo el coeficiente de curtosis se ajustaba al rango esperado. En cambio, las distribuciones de frecuencia de los años 2008, 2009 y del conjunto de todos los años, no se han ajustado a la normalidad.

Para los periodos con datos disponibles de los progenitores (2007, 2009 y conjunto de todos los años), los valores medios alcanzados por la progenie fueron superiores a los obtenidos por ‘Arbequina’ y ‘Manzanilla de Sevilla’ e inferiores a ‘Gordal Sevillana’, excepto para el año 2007 en el que la media de los genotipos sólo superó al cultivar Arbequina.

**Figura 19.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro longitud del hueso (mm): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 15.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro longitud del hueso (mm) para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

LONGITUD DEL HUESO (mm)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	110	12,61	12,55	16,71	8,58	11,07
2007	200	12,79	12,78	18,48	8,64	13,07
2008	164	11,92	11,65	19,16	7,21	14,11
2009	198	14,44	14,31	23,27	9,76	15,16
Años 2006/07/08/09*	672	13,03	12,81	23,27	7,21	15,69

## 1.1.3.1.8.- Anchura del hueso.-

En la figura 20 se puede observar los histogramas de frecuencia obtenidos para el parámetro *anchura del hueso* (mm), en los cuatro años evaluados y para el conjunto de todos los años. Además, en la tabla 16 se muestran los datos de frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficientes de variación para este carácter en los diferentes años y el total de años analizados.

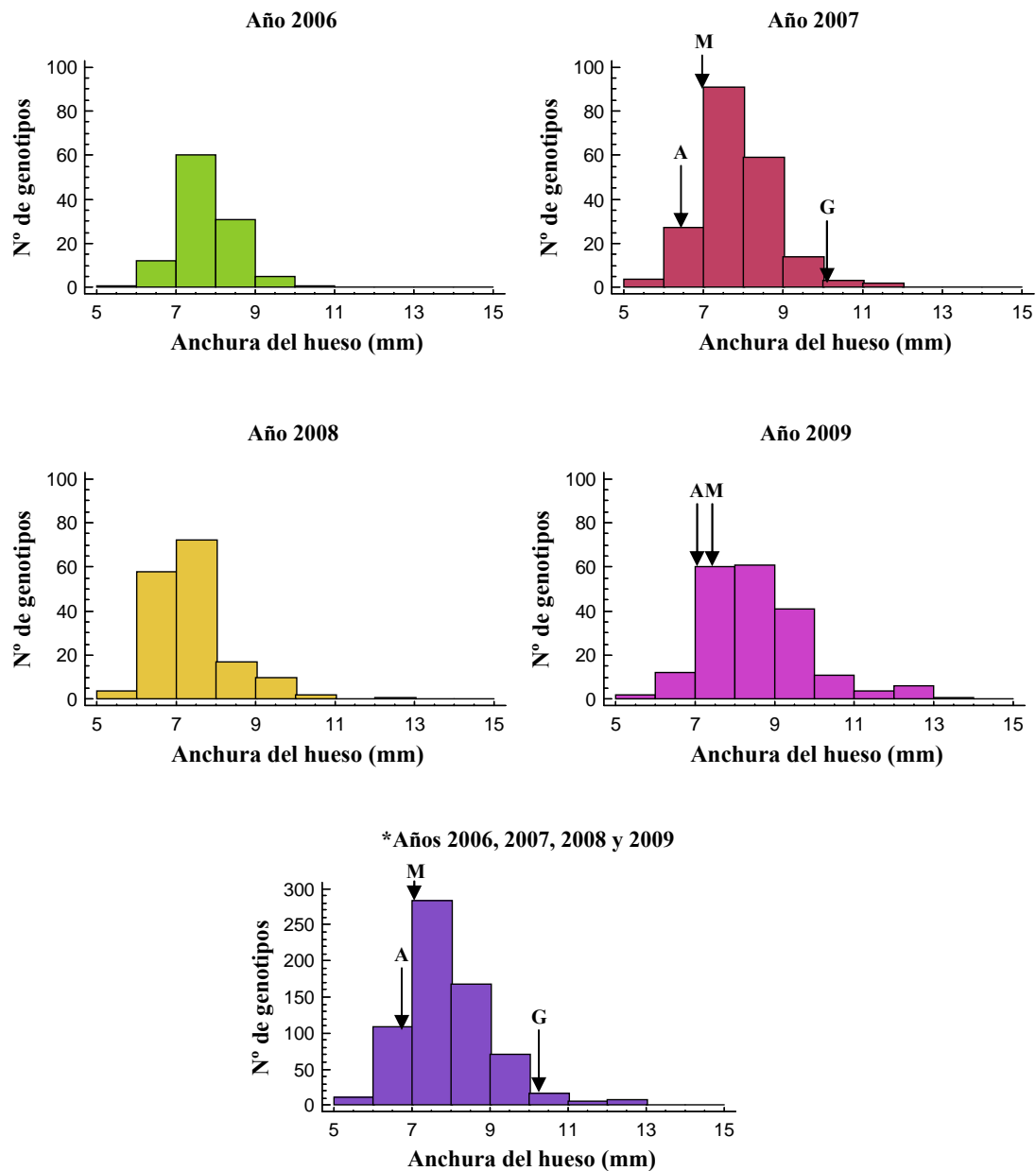
Para este parámetro, al igual que el resto de los citados hasta el momento, se ha encontrado una alta variabilidad entre los genotipos evaluados. Los valores máximos y mínimos obtenidos por los genotipos se encuentran muy distanciados entre sí, con valores comprendidos entre 5,44 y 13,88 mm para los años 2009 y 2007, respectivamente. Por el contrario, la variación del rango intercuartílico del 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) ha sido homogénea: 2006 (7,30-8,13 mm), 2007 (7,24-8,38 mm), 2008 (6,61-7,83 mm), 2009 (7,63-9,26 mm) y para todos los años (7,22-8,46 mm).

Los coeficientes de variación alcanzados para este parámetro están comprendidos entre 9,20% (2006) y 15,38% (2009).

En la mayoría de los histogramas representados en la figura 20 los coeficientes analizados (asimetría y curtosis estandarizadas) no se encontraban dentro del rango esperado para una distribución normal. Por el contrario, el histograma de frecuencia obtenido para los genotipos del año 2006, sólo el coeficiente de asimetría se ajustaba al rango.

A diferencia del resto de parámetros hasta ahora mencionados, los valores medios de *anchura del hueso* de los genotipos, para aquellos periodos con datos disponibles de los progenitores (2007, 2009 y conjunto de todos los años), fueron siempre superiores a los obtenidos por los cultivares Arbequina y Manzanilla de Sevilla e inferiores a ‘Gordal Sevillana’.

**Figura 20.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro anchura del hueso (mm): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 16.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro anchura del hueso (mm) para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

ANCHURA DEL HUESO (mm)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	110	7,75	7,76	10,34	5,82	9,20
2007	200	7,84	7,74	11,95	5,44	12,02
2008	164	7,42	7,34	12,89	5,52	14,02
2009	198	8,54	8,30	13,88	5,81	15,38
Años 2006/07/08/09*	672	7,93	7,77	13,88	5,44	14,36

## 1.1.3.1.9.- Índice de forma del hueso.-

Los histogramas de frecuencia obtenidos por años y todos los años para el parámetro *índice de forma del hueso* se muestran en la figura 21. El resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para los diferentes años y considerando la población de datos de todos los años se puede observar en la tabla 17.

Para este carácter, se ha encontrado una cierta variabilidad en los resultados, obteniéndose coeficientes de variación comprendidos entre 11,76% (2006) y 13,70% (2009). El valor mínimo de los diferentes genotipos ha sido de 0,73 para el año 2007, y el valor máximo de 1,16, alcanzado en 2008.

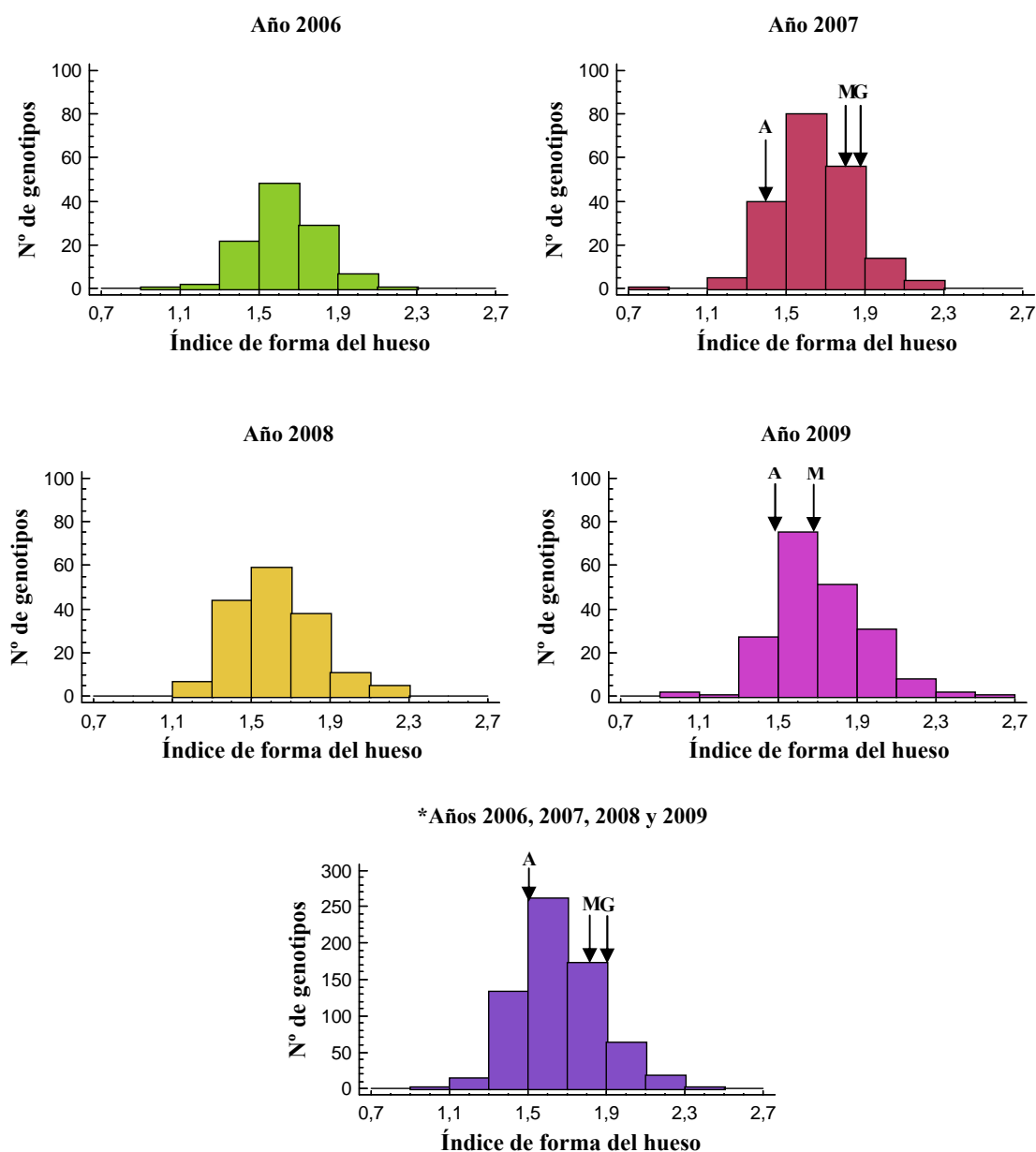
La variación del rango intercuartílico para el 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) en los diferentes periodos, ha resultado ser muy similar: 2006 (1,51-1,77), 2007 (1,52-1,77), 2008 (1,45-1,76), 2009 (1,55-1,86) y para el conjunto de todos los años (1,52-1,79).

Los histogramas realizados para los años 2006, 2007, 2009 y conjunto de todos los años se han ajustado parcialmente a una distribución normal ya que sólo el coeficiente de asimetría se encontraba dentro del rango esperado. En el año 2008, solamente el coeficiente de curtosis se encontraba dentro del rango.

Al igual que el *índice de forma del fruto* (Figura 18), para los años 2007, 2009 y conjunto de todos los datos, los valores medios alcanzados por la progenie fueron siempre superiores a los obtenidos por el cultivar Arbequina e inferiores a ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Gordal Sevillana’.



**Figura 21.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de forma del hueso: M, A y G, representan los valores de este parámetro para los progenitores (M: ‘Manzanilla de Sevilla’, A: ‘Arbequina’, G: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 17.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de forma del hueso para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

ÍNDICE DE FORMA DEL HUESO						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	110	1,64	1,64	2,23	0,96	11,76
2007	200	1,65	1,66	2,29	0,73	12,49
2008	164	1,62	1,62	2,29	1,16	13,27
2009	198	1,72	1,70	2,55	0,93	13,70
Años 2006/07/08/09*	672	1,66	1,66	2,55	0,73	13,12

## 1.1.3.1.10.- Índice de madurez.-

En la figura 22 se muestran los histogramas de frecuencia obtenidos para el parámetro *índice de madurez*, para los cuatro años analizados y para el conjunto de población de todos los años. El resumen estadístico correspondiente a este parámetro (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para cada uno de los años y la población total del conjunto de años, se puede observar en la tabla 18.

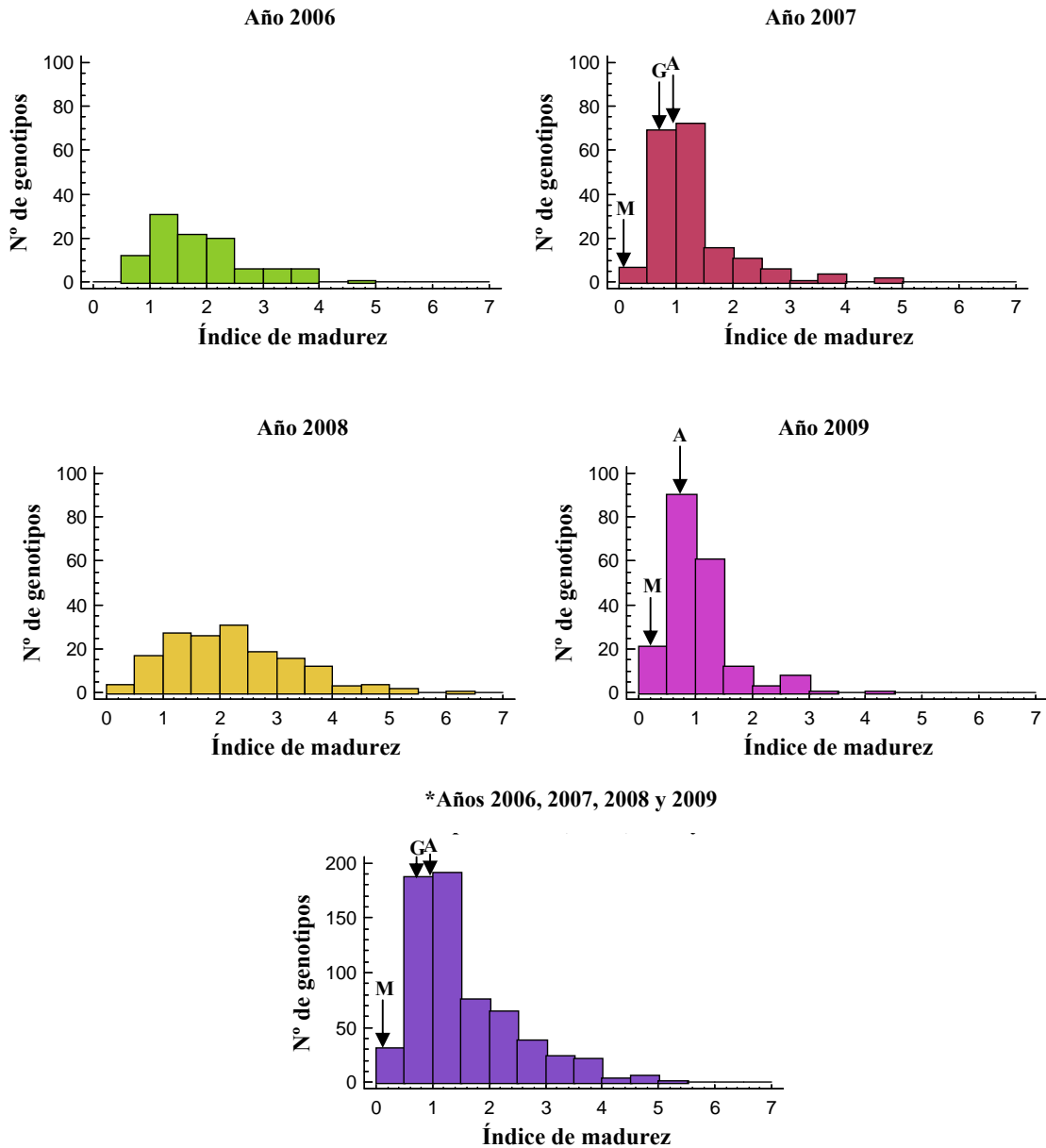
Para este carácter, se ha encontrado una alta variabilidad entre los genotipos y años evaluados, presentando coeficientes de variación comprendidos entre 44,85% para el año 2006 y 62,12% para el conjunto de todos los años. Los valores máximos y mínimos obtenidos para el *índice de madurez* en los diferentes genotipos se encuentran entre 0,00 y 1,55, ambos alcanzados en el año 2008.

El rango de variación para el 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) ha presentado valores comprendidos entre 1,00 y 3,00. En concreto, se han obtenido los siguientes valores: 2006 (1,14-2,32), 2007 (1,00-1,34), 2008 (1,26-2,92), 2009 (0,92-1,14) y para el conjunto de todos los años (1,00-1,99).

Como se puede observar, en la figura 22 los histogramas de frecuencia no han resultado ser normales para los años 2007, 2009 y el conjunto de todos los años. Los coeficientes analizados (asimetría y curtosis estandarizada) no se encontraban dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Para los años 2006 y 2008, el único valor que se ajustaba al rango ha sido el coeficiente de curtosis.

Al contrario que para la mayoría de los caracteres, los valores del *índice de madurez* son más altos para ‘Arbequina’, seguidos de ‘Gordal Sevillana’ y ‘Manzanilla de Sevilla’. Para los años con datos disponibles sobre los progenitores (2007, 2009 y el conjunto de todos los años) los valores medios de los genotipos son superiores al conjunto de los progenitores.

**Figura 22.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro índice de madurez: **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 18.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro índice de madurez para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

ÍNDICE DE MADUREZ						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	104	1,89	1,79	4,62	1,00	44,85
2007	200	1,25	1,04	4,80	0,00	61,58
2008	163	2,22	2,14	6,04	0,00	50,95
2009	197	1,10	1,00	4,38	0,08	52,79
Años 2006/07/08/09*	664	1,54	1,14	6,04	0,00	62,12

## 1.1.3.1.11.- Textura de la pulpa.-

En la figura 23 se muestran los histogramas de frecuencia obtenidos para el parámetro *textura de la pulpa* (KN/100g), para los cuatro años analizados y para el conjunto de población de todos los años. El resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para cada uno de los años y la población total del conjunto de años, se puede observar en la tabla 19.

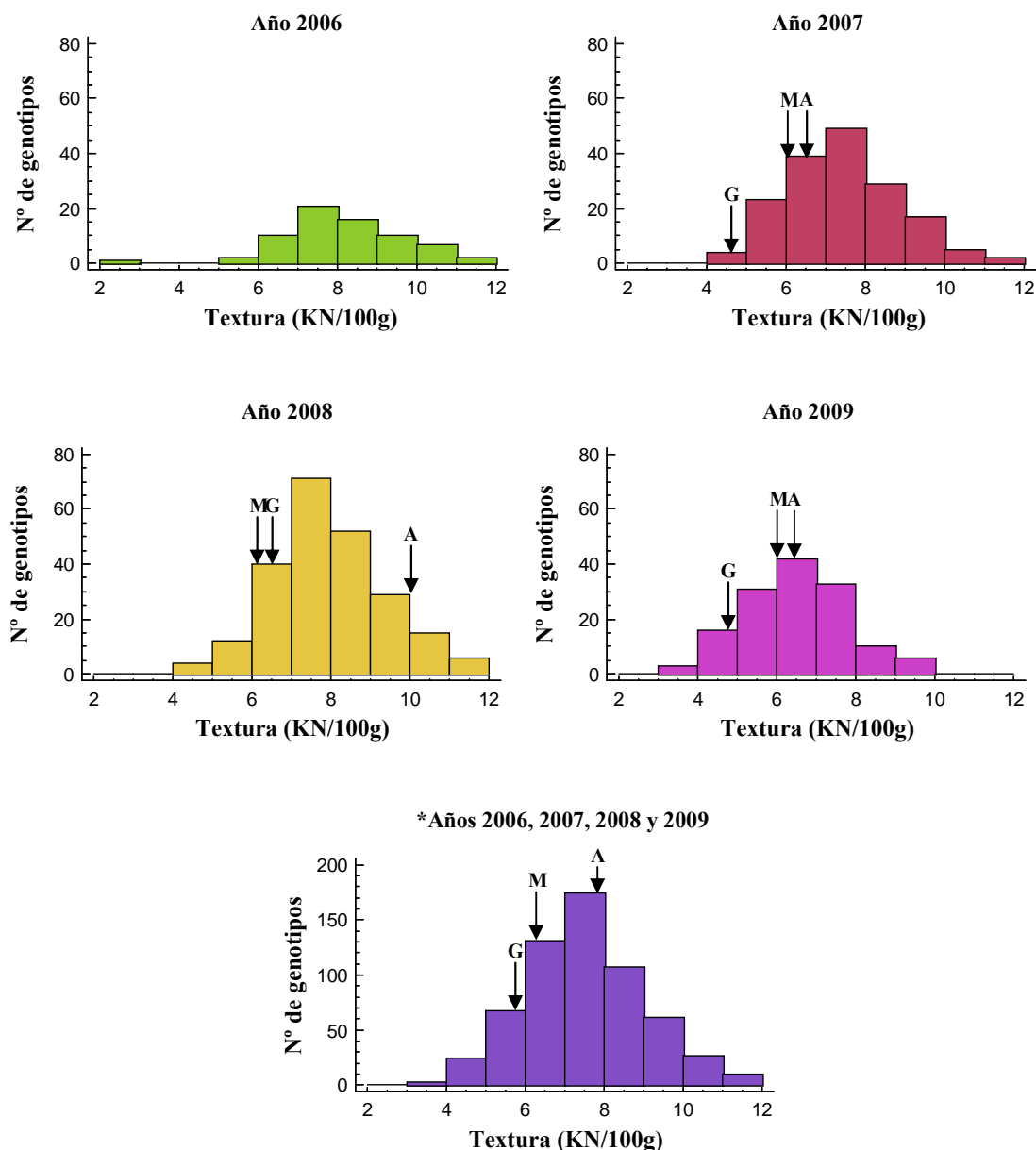
Para este carácter, al igual que en el resto de parámetros citados anteriormente, se ha encontrado una alta variabilidad entre los genotipos evaluados. Los valores máximos y mínimos de textura alcanzados por los diferentes genotipos han sido: 11,95 (KN/100g) y 2,12 (KN/100g), obtenidos ambos en el año 2006. La variación del rango intercuartílico del 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) ha presentado una diferencia de 0,22 (KN/100g) para los periodos considerados: 2006 (7,14-9,11 KN/100g), 2007 (6,48-8,23 KN/100g), 2008 (7,02-8,77 KN/100g), 2009 (5,58-7,40 KN/100g) y para todos los años (6,54-8,38 KN/100g). En el caso de los cuartiles, la variación máxima ha sido de 1,56 (KN/100g) para el conjunto de datos.

Los coeficientes de variación para el parámetro *textura de la pulpa*, han presentado valores comprendidos entre 18,02% para el año 2008 y 20,44% para el conjunto de todos los años.

Los histogramas de frecuencia representados en la figura 23, han resultado ser normales para los años 2008, 2009 y el conjunto de todos los años, encontrándose los coeficientes analizados (asimetría y curtosis estandarizada) dentro del rango esperado para una distribución normal. El coeficiente de asimetría para el año 2006, fue el único valor que se ajustaba al rango. En cambio, para el año 2007, sólo el de curtosis se encontraba dentro del rango esperado.

Los valores medios de *textura de la pulpa* obtenidos por los progenitores han sido superiores para 'Arbequina', seguidos de 'Manzanilla de Sevilla' y 'Gordal Sevillana'. Para el año 2009 y el conjunto de todos los años, los valores medios de textura de la progenie fueron similares al cultivar Arbequina. Para 2007 la media de los genotipos ha sido superior, e inferior para el año 2008, con respecto a este mismo progenitor.

**Figura 23.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro textura de la pulpa (KN/100g): M, A y G, representan los valores de este parámetro para los progenitores (M: ‘Manzanilla de Sevilla’, A: ‘Arbequina’, G: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 19.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro textura de la pulpa (KN/100g) para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

TEXTURA DE LA PULPA (KN/100g)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	69	8,14	8,08	11,95	2,12	18,57
2007	168	7,41	7,32	11,55	4,06	19,00
2008	229	7,96	7,84	11,79	4,47	18,02
2009	141	6,50	6,53	9,78	3,14	20,40
Años 2006/07/08/09*	607	7,49	7,41	11,95	2,12	20,44

## 1.1.3.1.12.- Rendimiento graso.-

Los histogramas de frecuencia para el *rendimiento graso sobre peso fresco* (%) se muestran en la figura 24. Los correspondientes a peso seco (%) se representan en la figura 25. Todos los histogramas se han realizado para cada uno de los años evaluados y para el conjunto de todos los años. En las tablas 20 y 21 se recogen los resúmenes estadísticos (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficientes de variación) para ambos caracteres en los cuatro años evaluados y la población total del conjunto de años.

Para ambos *rendimientos grasos*, se ha observado una alta variabilidad en la progenie. Los valores máximos y mínimos alcanzados por los genotipos para el rendimiento sobre peso fresco han sido: 21,70% en el año 2006 y 1,30% en 2009, respectivamente. Por el contrario, para el *rendimiento graso sobre peso seco* los valores han resultado superiores: 47,68% en el año 2007 y 3,68% en 2009.

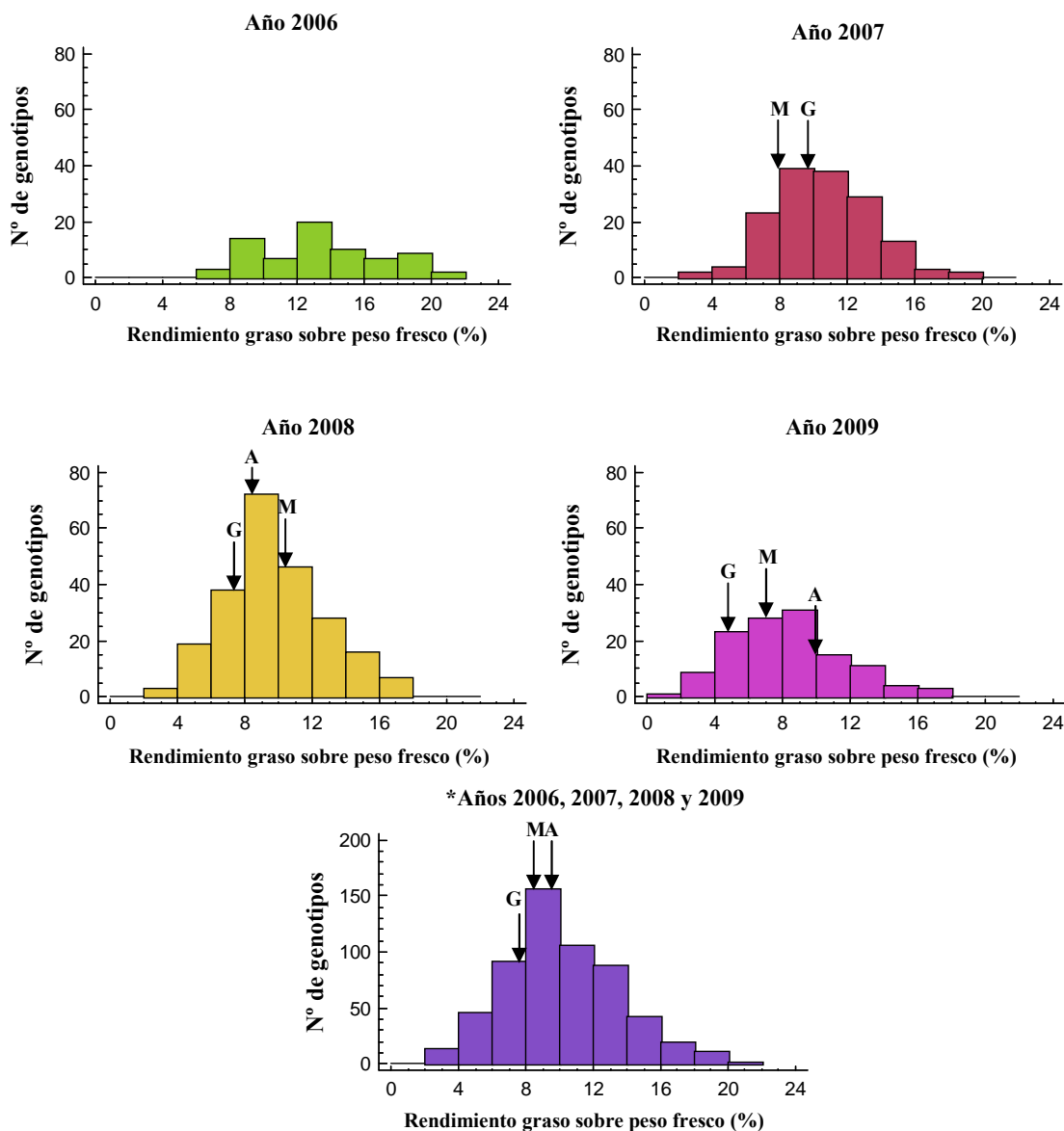
La variación del rango intercuartílico (diferencia entre el primer y tercer cuartil), que representa el 50% de la población, ha sido superior en *rendimiento graso sobre peso seco*: 2006 (22,58-33,43%), 2007 (25,00-34,42%), 2008 (23,15-32,78%), 2009 (17,11-27,88%), y para el conjunto de datos (22,58-33,43%). La variación del rango intercuartílico alcanzados por el 50% de la población para el *rendimiento sobre peso fresco*, se encuentran comprendidos entre (6,00-10,50%) para el año 2009 y (10,30-16,05%) para 2006.

Los coeficientes de variación obtenidos en la progenie han sido altos: 27,74% (2007) y 39,27% (2009), para el *rendimiento graso sobre peso fresco* (Tabla 20); 21,05% (2006) y 34,69% (2009), considerando el *rendimiento sobre peso seco* (Tabla 21).

Las distribuciones obtenidas, en todos los periodos considerados, tanto para *rendimiento graso sobre peso seco* como en *fresco*, se han ajustado a una normal (Figuras 24 y 25). Como excepción, indicar que, para el *rendimiento graso sobre peso fresco*, en el conjunto de todos los años, sólo el coeficiente de curtosis quedaba dentro del rango esperado.

Los valores alcanzados por los progenitores tanto en *rendimiento fresco* como en *seco*, no han seguido un patrón fijo, variando en función del año y la variedad. En líneas generales, los valores medios de los genotipos han sido superiores a los progenitores o se han situado cerca de este valor.

**Figura 24.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro rendimiento graso sobre peso fresco (%): M, A y G, representan los valores de este parámetro para los progenitores (M: ‘Manzanilla de Sevilla’, A: ‘Arbequina’, G: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.

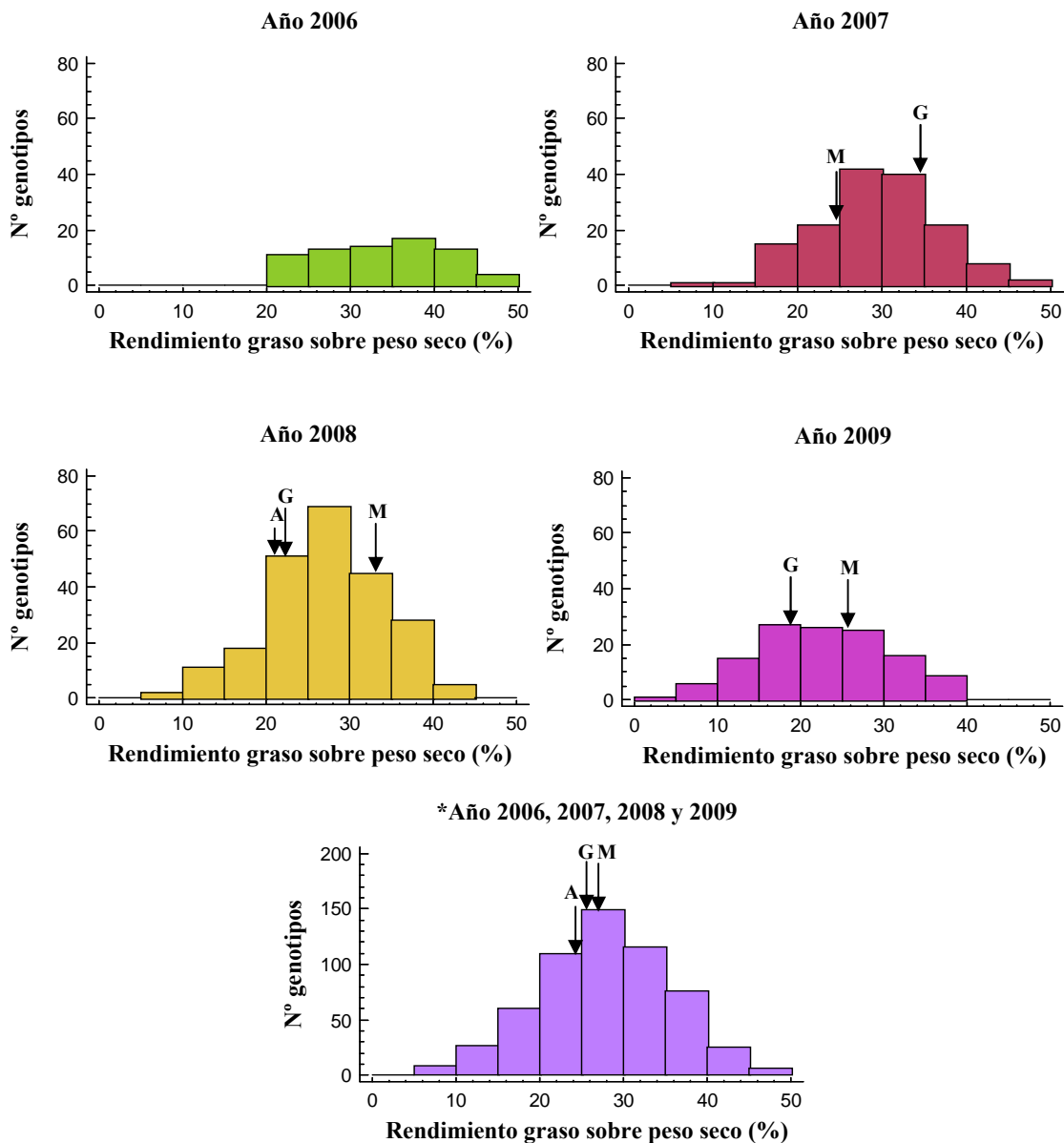


**Tabla 20.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro rendimiento graso sobre peso fresco (%) para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

RENDIMIENTO GRASO SOBRE PESO FRESCO (%)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	72	13,41	13,20	21,70	6,60	27,84
2007	153	10,61	10,50	19,90	3,00	27,74
2008	229	9,83	9,60	17,90	2,70	29,64
2009	125	8,29	8,10	17,30	1,30	39,27
Años 2006/07/08/09*	579	10,15	9,80	21,70	1,30	33,81

**Figura 25.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro rendimiento graso sobre peso seco (%): M, A y G, representan los valores de este parámetro para los progenitores (M: ‘Manzanilla de Sevilla’, A: ‘Arbequina’, G: ‘Gordal Sevillana’).

*\*Considerando la población de datos de todos los años.*



**Tabla 21.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro rendimiento graso sobre peso seco (%) para los diferentes años y *\* considerando la población de datos de todos los años.*

RENDIMIENTO GRASO SOBRE PESO SECO (%)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	72	33,82	34,22	46,26	20,05	21,05
2007	153	29,50	29,51	47,68	8,80	24,24
2008	229	27,32	26,99	43,94	7,92	25,45
2009	125	22,75	23,01	39,86	3,68	34,69
Años 2006/07/08/09*	579	27,72	27,32	47,68	3,68	28,63



## 1.1.3.1.13.- Humedad del fruto.-

En la figura 26 se muestran los histogramas de frecuencia obtenidos para el parámetro *humedad del fruto* (%), en los cuatro años evaluados y para el conjunto de todos los años. En la tabla 22 se recogen, además, los datos de frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficientes de variación para este carácter en los diferentes años y el total de años analizados.

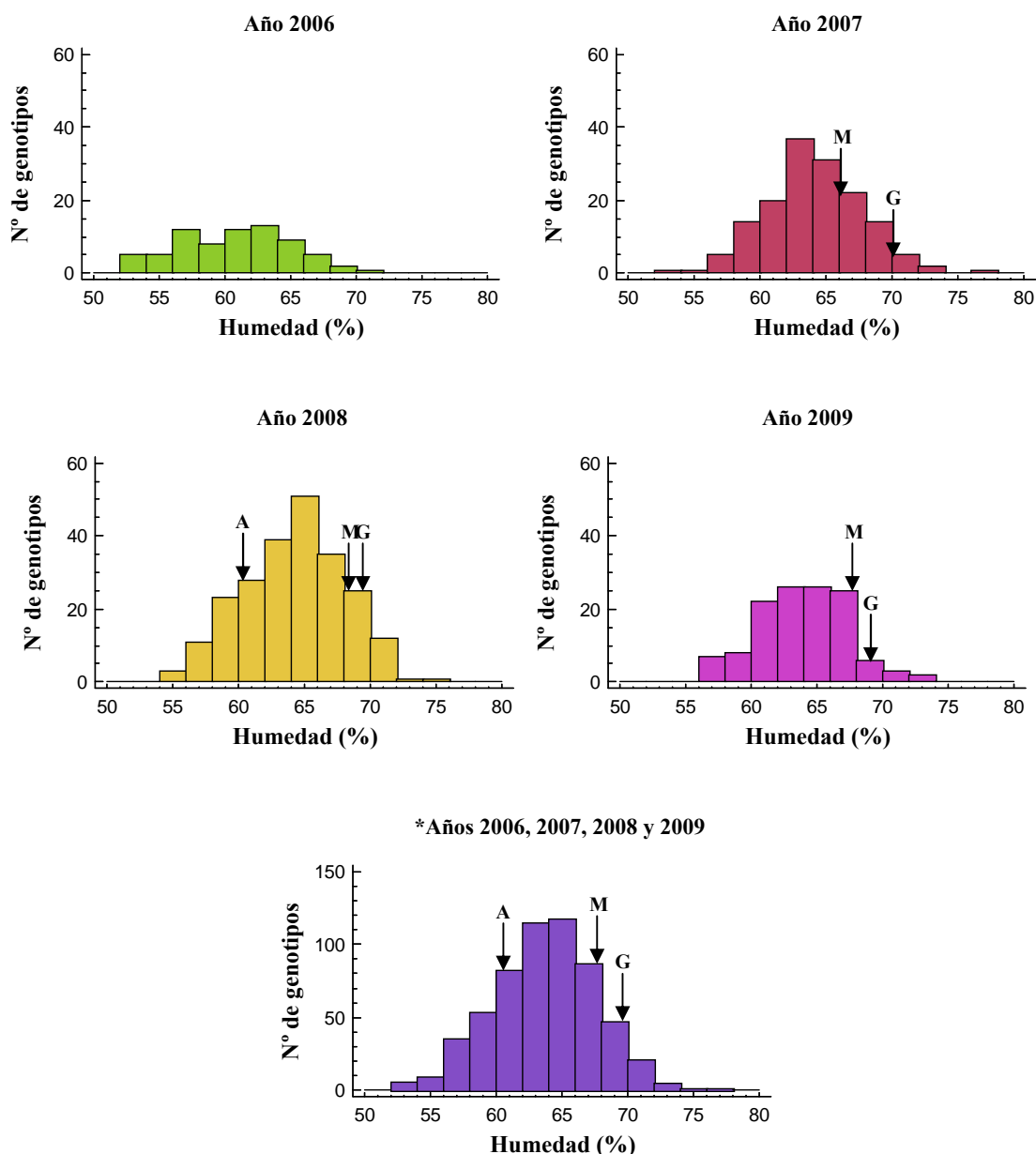
Para la *humedad del fruto*, al igual que el resto de parámetros, se ha encontrado una alta variabilidad entre los genotipos evaluados. Los valores máximos y mínimos obtenidos se encuentran muy distanciados entre sí: 76,60% y 52,50% para los años 2007 y 2006, respectivamente. La variación del rango intercuartílico para el 50% de la población (diferencia entre el primer y tercer cuartil) ha sido: 2006 (57,75-63,75%), 2007 (61,90-66,80%), 2008 (61,60-66,90%), 2009 (61,20-66,40%) y para el conjunto de todos los años (60,90-66,30%).

Los coeficientes de variación (%) obtenidos para este parámetro han resultado ser, junto con los del *índice de forma del fruto* (Tabla 14), los de menor valor de todos los caracteres evaluados, oscilando entre 5,46% para 2009 y 7,03% para 2006.

Cabe destacar que, para este parámetro, todos los histogramas de frecuencia obtenidos han resultado ser normales (Figura 26).

Al igual que carácter *relación pulpa-hueso* (Figura 15), los valores medios del porcentaje de *humedad de los frutos* alcanzados por la progenie, fueron siempre superiores a los obtenidos por el cultivar Arbequina e inferiores a ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Gordal Sevillana’.

**Figura 26.-** Histogramas de frecuencia por años y para todos los años para el parámetro humedad del fruto (%): **M**, **A** y **G**, representan los valores de este parámetro para los progenitores (**M**: ‘Manzanilla de Sevilla’, **A**: ‘Arbequina’, **G**: ‘Gordal Sevillana’). \*Considerando la población de datos de todos los años.



**Tabla 22.-** Resumen estadístico (frecuencia, valores medios, mediana, máximos, mínimos y coeficiente de variación) para el parámetro humedad del fruto (%) para los diferentes años y \* considerando la población de datos de todos los años.

HUMEDAD DEL FRUTO (%)						
Años	Frecuencia	Media	Mediana	Máximo	Mínimo	CV (%)
2006	72	60,79	61,45	70,60	52,50	7,03
2007	153	64,14	63,90	76,60	53,80	5,88
2008	229	64,18	64,40	75,90	54,70	5,97
2009	125	63,92	64,00	73,80	56,40	5,46
Años 2006/07/08/09*	579	63,69	63,80	76,60	52,50	6,20

**1.1.3.2.- Estudio de la varianza y de la repetibilidad de los caracteres evaluados.-**

En la tabla 23 se muestran los porcentajes de varianza entre genotipo, año y residual (interacción genotipo x año y otros efectos no explicados) para los 14 parámetros evaluados y sólo para aquellos genotipos con datos disponibles en los tres primeros años (2006, 2007, 2008) (**Diseño equilibrado**). Se incluye además, frecuencias, coeficientes de variación (%) y repetibilidad (**R**), esta última calculada para estudiar la respuesta a la selección.

Para la mayoría de los parámetros (*peso del fruto, relación pulpa-hueso, longitud del fruto, índice de forma del fruto, longitud del hueso, anchura del hueso, índice de forma del hueso, textura de la pulpa y humedad del fruto*) el mayor porcentaje de la varianza fue debida al genotipo, seguido de residual y año. Para los parámetros *anchura del fruto, rendimiento graso sobre peso fresco y sobre peso seco*, el genotipo también representó la principal contribución a la varianza, superando al componente año y residual, respectivamente. Por el contrario, el carácter *producción* presentó una mayor influencia en la varianza debida al año, obteniéndose un menor porcentaje para el componente genotipo. Sólo para el parámetro *índice de madurez* se alcanzó un mayor porcentaje debido al residual, seguido del genotipo y año.

La significación encontrada para genotipo y año en todos los parámetros evaluados ha sido muy alta ( $P \leq 0,001$ ), excepto para *textura de la pulpa* ( $P \leq 0,05$ , para el año) e *índice de forma de hueso* (no significativa para el año).

Se han obtenido altos coeficientes de variación para los parámetros *producción* (40,40%), *índice de forma del fruto* (36,46%) e *índice de madurez* (32,71%). Para *peso del fruto* (16,39%), *relación pulpa-hueso* (13,89%), *textura de la pulpa* (12,36%) y *rendimiento graso tanto en fresco* (12,00%) como en *seco* (10,24%), los coeficientes de variación han resultado algo inferiores. Indicar que, para el resto de caracteres (*longitud del fruto, anchura del fruto, longitud del hueso, anchura del hueso, índice de forma del hueso y humedad de la pulpa*) están comprendidos entre 2% y 6%.

La repetibilidad (**R**), calculada para los años 2006, 2007 y 2008, ha resultado superior a 0,70 en todos los caracteres (Tabla 23). Los valores más bajos han sido para *producción* (0,71) e *índice de madurez* (0,74). Los valores intermedios se han obtenido para la *relación pulpa-hueso* (0,86), *longitud del fruto* (0,87), *anchura del hueso* (0,85) y *textura de la pulpa* (0,77). Los parámetros *anchura del fruto* (0,91), *rendimiento graso* (0,92), *humedad del fruto* (0,92), *longitud del hueso* (0,93), *peso del fruto* (0,94), *índice de forma del hueso* (0,96) e *índice de forma del fruto* (0,97), han mostrado una repetibilidad (**R**) alta.

**Tabla 23.-** Porcentaje de la varianza entre genotipo, año (2006, 2007 y 2008) y residual para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). Para este análisis se ha considerado sólo aquellos genotipos que se repiten en los tres años (*Diseño equilibrado*). *ns*: no significativo; \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ .

	PROD	PF	P/H	LF	AF	IFF	LH	AH	IFH	IM	TEX	RTO F	RTO S	HUM
<b>Genotipo</b>	15,71***	72,69***	63,67***	55,73***	61,33***	89,69***	75,06***	57,84***	88,81***	36,44***	51,11***	57,87***	60,24***	65,41***
<b>Año</b>	65,50***	12,74***	5,36***	19,71***	19,59***	1,49***	6,97***	10,99***	0,04ns	24,86***	2,43*	27,85***	23,09***	16,54***
<b>Residual</b>	18,79	14,58	30,97	24,56	19,08	8,82	17,97	31,16	11,15	38,70	46,46	14,28	16,67	18,05
<b>Frecuencia</b>	117	116	99	65	65	65	64	64	64	61	62	55	55	55
<b>CV (%)</b>	40,40	16,39	13,89	5,43	5,23	36,46	3,63	5,91	3,93	32,71	12,36	12,00	10,24	2,74
<b>Repetibilidad<sup>1</sup></b>	0,71	0,94	0,86	0,87	0,91	0,97	0,93	0,85	0,96	0,74	0,77	0,92	0,92	0,92

<sup>1</sup>Repetibilidad estimada:  $R = \frac{\sigma^2_G}{\sigma^2_G + \frac{\sigma^2_e}{n}}$  donde  $\sigma^2_G$  es la varianza entre genotipos,  $\sigma^2_e$  varianza del error y  $n$  es el número de años evaluados.

En la figura 27 se muestra el porcentaje de la suma de cuadrados (%) entre cruzamientos, genotipos dentro del cruzamiento, año y residual, para los 14 caracteres evaluados. Se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (**Diseño no equilibrado**).

Los mayores porcentajes de suma de cuadrados se han obtenido entre genotipos dentro del cruzamiento. Destacan los valores para *rendimiento graso sobre peso fresco* (80,54%), *humedad del fruto* (82,83%), *índice de forma del fruto* (85,44%) y *hueso* (87,84%). El menor valor correspondió a *producción* (35,03%), único carácter para el que este componente no fue mayoritario.

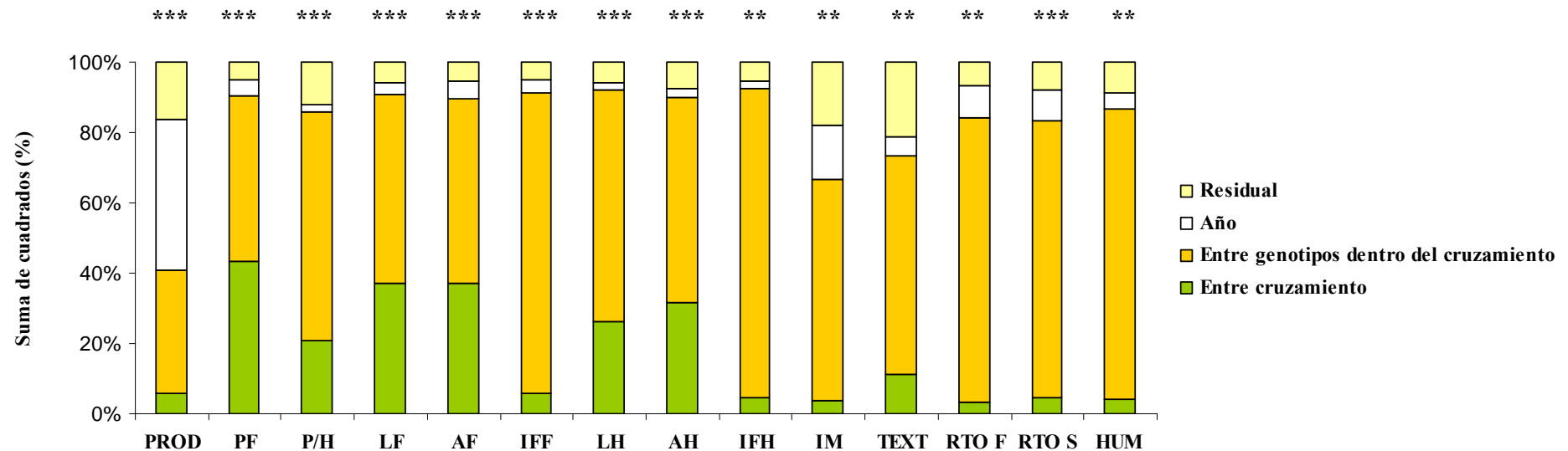
Para todos los parámetros, los porcentajes de suma de cuadrados obtenidos entre cruzamientos varían entre 3,46% para *rendimiento graso sobre peso fresco* y 43,46% para *peso del fruto*.

El porcentaje de la suma de cuadrados debido al residual están comprendidos entre 4,81%-21,35%, presentando valores superiores para: *producción* (16,39%), *índice de madurez* (18,10%) y *textura de la pulpa* (21,35%). Para los caracteres restantes, los porcentajes son menores al 15,00%.

El componente año es el que presenta una menor contribución al total de la varianza para todos los parámetros analizados, excepto *producción*, *índice de madurez*, *humedad del fruto*, *rendimiento sobre peso fresco* y *sobre peso seco*. Destaca el carácter *producción* con un 42,92%, oscilando el resto entre 15,28% para el *índice de madurez* y 1,99% para la *relación pulpa-hueso*.

La significación encontrada ‘entre cruzamientos’ ha resultado ser muy alta ( $P \leq 0,001$ ) para todos los caracteres excepto: *índice de forma del hueso*, *índice de madurez*, *textura de la pulpa*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *humedad del fruto*, en los que la significación ha sido algo menor ( $P \leq 0,01$ ).

**Figura 27.-** Porcentaje de la suma de cuadrados (%) entre cruzamientos (verde), genotipos dentro del cruzamiento (naranja), año (blanco) y residual (amarillo) para los 14 parámetros analizados de los cuatro años: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). La significación indicada para cada parámetro corresponde a la encontrada entre cruzamientos: \*\* significativo  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ .



Para comparar resultados, se realizó el mismo análisis para aquellos genotipos que presentaban datos en los años 2007 y 2008 (**Diseño equilibrado**), obteniéndose resultados similares (datos no presentados).

La comparación de medias por el **Test Tukey HSD** ( $P \leq 0,05$ ) entre los diferentes años (2006, 2007 y 2008) y parámetros evaluados se recoge en la tabla 24.

Para todos los parámetros evaluados, excepto para el *índice de forma del hueso*, se han encontrado diferencias significativas entre años.

Destaca por los valores medios más bajos, el año 2008, excepto para *producción*, *índice de forma del fruto*, *índice de madurez* y *humedad del fruto*. Por el contrario, en 2006 se han alcanzado los valores más altos para *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *longitud* y *anchura del fruto*, *longitud* y *anchura del hueso*, *índice de madurez*, *textura de la pulpa* y *rendimiento graso*.

**Tabla 24.-** Comparación de medias entre los distintos años (2006, 2007 y 2008) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). Para este análisis se ha considerado sólo aquellos genotipos que se repiten en los tres años (*Diseño equilibrado*). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).

<b>AÑO</b>	<b>PROD</b>	<b>PF</b>	<b>P/H</b>	<b>LF</b>	<b>AF</b>	<b>IFF</b>	<b>LH</b>	<b>AH</b>	<b>IFH</b>	<b>IM</b>	<b>TEX</b>	<b>RTO F</b>	<b>RTO S</b>	<b>HUM</b>
<b>2006</b>	2.163,97 <b>a</b>	2,57 <b>c</b>	4,94 <b>b</b>	18,08 <b>c</b>	15,27 <b>c</b>	1,19 <b>a</b>	12,38 <b>b</b>	7,63 <b>b</b>	1,63 <b>a</b>	2,05 <b>b</b>	8,12 <b>b</b>	13,40 <b>c</b>	34,14 <b>c</b>	61,15 <b>a</b>
<b>2007</b>	10.999,40 <b>b</b>	2,39 <b>b</b>	4,75 <b>b</b>	17,62 <b>b</b>	14,67 <b>b</b>	1,21 <b>b</b>	12,26 <b>b</b>	7,50 <b>b</b>	1,65 <b>a</b>	1,20 <b>a</b>	7,65 <b>a</b>	10,91 <b>b</b>	30,23 <b>b</b>	63,97 <b>b</b>
<b>2008</b>	17.603,80 <b>c</b>	1,89 <b>a</b>	4,39 <b>a</b>	16,51 <b>a</b>	13,73 <b>a</b>	1,21 <b>b</b>	11,63 <b>a</b>	7,12 <b>a</b>	1,65 <b>a</b>	1,91 <b>b</b>	8,07 <b>ab</b>	9,65 <b>a</b>	26,77 <b>a</b>	64,12 <b>b</b>



### 1.1.3.3.- Influencia de los cruzamientos en los parámetros estudiados.-

#### 1.1.3.3.1.- Análisis de todos los cruzamientos.-

Para ver la influencia de los diferentes cruzamientos en los 14 parámetros evaluados, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) con separación de medias por el **Test Tukey HSD** ( $P \leq 0,05$ ) para el conjunto de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (**Diseño no equilibrado**) (Tablas 25, 26, 27 y 28). Para cada cruzamiento y parámetro se indicó además, la frecuencia de los datos y el coeficiente de variación (%). Las abreviaturas de los cruzamientos quedan indicadas en dichas tablas.

En líneas generales, para los 14 parámetros, se han encontrado diferencias significativas entre los valores medios de los diferentes cruzamientos.

La alta variabilidad encontrada en todos los cruzamientos para los caracteres analizados, se ha visto reflejada en los altos coeficientes de variación, destacando *producción* (82,18-138,32%), *rendimiento graso sobre peso seco* (21,48-111,90%) y *sobre peso fresco* (24,87-111,03%), *índice de madurez* (22,06-75,55%), *peso del fruto* (21,69-53,08%), *textura de la pulpa* (16,51-46,68%) y *relación pulpa-hueso* (24,16-32,99%). Indicar que los valores más bajos se han obtenido para el parámetro *humedad del fruto*, con valores comprendidos entre 1,19-7,05%. Algunos cruzamientos y parámetros presentan coeficientes de variación del 0,00%, debido a que se ha evaluado un sólo genotipo.

Los genotipos del cruzamiento ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’ (M x CHR) presentan altos coeficientes de variación para los parámetros *producción* (111,94%), *peso del fruto* (45,97%), *relación pulpa-hueso* (32,99%) e *índice de madurez* (75,55%) y la progenie procedentes de ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’ (G x St.CAT) para el *rendimiento graso sobre peso seco* (111,90%) y *sobre peso fresco* (111,03%).

#### *Producción.-*

Para el parámetro *producción* se han encontrado diferencias significativas en la progenie de algunos de los cruzamientos evaluados (Tabla 25). Los genotipos procedentes de ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’ (M x A) (11.157,50 g/genotipo) han resultado ser los más productivos. Con producciones menores se encuentran la progenie de ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (A x M) (9.526,05 g/genotipo), ‘Manzanilla de Sevilla’ en polinización libre (8.596,43 g/genotipo) y ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’ (M x G) (5.693,19 g/genotipo), todos ellos estadísticamente distintos entre sí. Los valores medios obtenidos por ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’ (M x St.CAT) (80,00 g/genotipo), ‘Manzanilla de Sevilla’ x

‘Changlot Real’ (M x CHR) (360,00 g/genotipo), ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (CHR x M) (736,25 g/genotipo) y ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (ASC x M) (2.320,00 g/genotipo), sin diferencias entre ellos, han resultado ser inferiores al resto. La frecuencia de datos para estas progenies ha sido reducida 1, 4, 16 y 2, respectivamente.

#### *Peso del fruto.-*

Para este parámetro, los genotipos pertenecientes a los cruzamientos ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’ (G x St.CAT) (5,92 g) y ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’ (M x G) (5,79 g), que no difieren significativamente entre sí, presentan frutos con un peso medio superior a 5,00 g (Tabla 25). Por el contrario, las progenies de ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (A x M) (2,24 g), ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’ (M x A) (2,37 g) y ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (ASC x M) (2,68 g), sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos, muestran los valores más bajos.

Con valores medios se encuentran los genotipos de ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’ (M x St.CAT) (4,64 g), ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’ (M x CHR) (3,84 g), ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (CHR x M) (3,08 g) y ‘Manzanilla de Sevilla’ en polinización libre (2,61 g), todos ellos estadísticamente distintos entre sí.

#### *Relación pulpa-hueso.-*

Los valores más bajos de *relación pulpa-hueso* (Tabla 25), se han obtenido para ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (ASC x M) (3,98) y ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (A x M) (4,53), con valores que no difieren significativamente. Se da la circunstancia de que estos cruzamientos poseen valores bajos para el carácter *peso del fruto* (Tabla 25). Por el contrario, la *relación pulpa-hueso* más alta se ha obtenido en las progenies de ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’ (M x CHR) (6,43), ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’ (M x G) (7,22) y ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’ (G x St.CAT) (6,93), que no difieren de forma significativa. Los dos últimos obtuvieron también valores muy altos para peso de fruto (mayor de 5,00 g).

**Tabla 25.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**) y relación pulpa-hueso (**P/H**) por cruzamiento: **A x M**: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M**: ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre**: ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT**: ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M**: ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre**: ‘Gordal Libre’. **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado).*

Cruzamientos	PROD			PF			P/H		
	Frecuencia	Media	CV (%)	Frecuencia	Media	CV (%)	Frecuencia	Media	CV (%)
<b>A x M</b>	297	9.526,05d	82,18	321	2,24a	31,52	309	4,53a	24,16
<b>M x A</b>	120	11.157,50e	86,22	130	2,37a	30,65	122	5,02bc	26,79
<b>M x CHR</b>	4	360,00a	111,94	19	3,84d	45,97	19	6,43def	32,99
<b>M x G</b>	23	5.693,19b	138,32	24	5,79f	37,82	23	7,22f	31,78
<b>CHR x M</b>	16	736,25a	137,05	41	3,08c	25,11	40	5,71d	29,08
<b>M Libre</b>	141	8.596,43c	100,50	158	2,61b	53,08	153	5,10c	32,00
<b>M x St.CAT</b>	1	80,00abc	0,00	48	4,64e	29,00	48	6,38e	25,04
<b>G x St.CAT</b>	-	-	-	11	5,92f	21,69	11	6,93ef	27,54
<b>ASC x M</b>	2	2.320,00ab	104,85	11	2,68abc	35,06	11	3,98ab	31,52
<b>G Libre</b>	-	-	-	1	4,64cdef	0,00	1	5,90abcdef	0,00

*Longitud del fruto.-*

Como se puede observar en la tabla 26, los valores más bajos para la *longitud del fruto* se han observado en las progenies que han presentado un menor *peso del fruto*: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (A x M) (17,69 mm) y ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’ (M x A) (18,11 mm). Los genotipos procedentes de ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’ (M x G) (23,44 mm), ‘Gordal Sevillana’ en polinización libre (24,28 mm) y ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’ (G x St.CAT) (24,41 mm), que no difieren significativamente entre sí, han alcanzado valores más altos que el resto de cruzamientos. La progenie de este último se caracteriza, además, por *peso del fruto* y *relación pulpa-hueso* alta.

*Anchura del fruto.-*

Los valores medios de *anchura del fruto* para ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’ (M x G) (20,87 mm), ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’ (G x St.CAT) (20,46 mm) y ‘Gordal Sevillana’ en polinización libre (18,25 mm), que no difieren estadísticamente de forma significativa, han sido los más altos de todos los cruzamientos evaluados (Tabla 26). Asimismo, estas progenies presentan valores altos para *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso* y *longitud del fruto*.

El valor más bajo de *anchura de fruto* se ha obtenido para la progenie del cruzamiento ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (A x M) (14,75 mm).

*Índice de forma del fruto.-*

Las medias obtenidas para este parámetro (Tabla 26) han resultado ser superiores para ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (ASC x M) (1,34) y ‘Gordal Sevillana’ en polinización libre (1,33). Por el contrario, los valores medios de los genotipos procedentes de ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’ (M x G) (1,13), ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’ (M x CHR) (1,20), ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’ (M x St.CAT) (1,20), ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’ (G x St.CAT) (1,20), cuyas diferencias no son estadísticamente significativas, han resultado ser inferiores al resto.

**Tabla 26.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**) e índice de forma del fruto (**IFF**) por cruzamiento: **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M:** ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre:** ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT:** ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M:** ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre:** ‘Gordal Libre’. **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado).*

Cruzamientos	LF			AF			IFF		
	Frecuencia	Media	CV (%)	Frecuencia	Media	CV (%)	Frecuencia	Media	CV (%)
<b>A x M</b>	273	17,69 <sup>a</sup>	10,71	273	14,75 <sup>a</sup>	10,41	273	1,20 <sup>c</sup>	7,53
<b>M x A</b>	110	18,11 <sup>ab</sup>	10,88	110	15,21 <sup>b</sup>	10,65	110	1,20 <sup>bc</sup>	7,54
<b>M x CHR</b>	24	20,57 <sup>d</sup>	12,79	24	17,21 <sup>d</sup>	13,07	24	1,20 <sup>ab</sup>	7,14
<b>M x G</b>	18	23,44 <sup>ef</sup>	9,99	18	20,87 <sup>f</sup>	11,00	18	1,13 <sup>a</sup>	11,18
<b>CHR x M</b>	43	20,32 <sup>d</sup>	9,34	43	16,28 <sup>cd</sup>	10,32	43	1,26 <sup>c</sup>	8,37
<b>M Libre</b>	139	18,62 <sup>bc</sup>	16,14	139	15,43 <sup>b</sup>	18,43	139	1,22 <sup>cd</sup>	10,50
<b>M x St.CAT</b>	49	22,60 <sup>e</sup>	11,30	49	18,80 <sup>e</sup>	10,07	49	1,20 <sup>a</sup>	7,39
<b>G x St.CAT</b>	10	24,41 <sup>f</sup>	9,61	10	20,46 <sup>f</sup>	6,14	10	1,20 <sup>ab</sup>	7,51
<b>ASC x M</b>	9	20,42 <sup>cd</sup>	10,40	9	15,38 <sup>abc</sup>	15,05	9	1,34 <sup>d</sup>	8,65
<b>G Libre</b>	1	24,28 <sup>def</sup>	0,00	1	18,25 <sup>bcdef</sup>	0,00	1	1,33 <sup>abcd</sup>	0,00

*Longitud del hueso.-*

Para el parámetro *longitud del hueso*, destacan los genotipos pertenecientes a M x G (14,76 mm), ASC x M (15,12 mm), M x St.CAT (15,53 mm) y G x St.CAT (16,45 mm) y ‘Gordal Sevillana’ en polinización libre (17,2 mm), que no difieren estadísticamente entre sí y presentan un valor superior al resto de progenies (Tabla 27). Por el contrario, las progenies de M x A (12,29 mm) y A x M (12,46 mm) han obtenido la menor *longitud del hueso*.

*Anchura del hueso.-*

Los menores valores de *anchura del hueso* (Tabla 27) se han obtenido para M x A (7,57 mm), A x M (7,60 mm) y ‘Manzanilla de Sevilla’ (7,76 mm) y ‘Gordal Sevillana’ (8,29 mm), ambas en polinización libre y ASC x M (8,32 mm). Por el contrario, la *anchura del hueso* más alta han sido para los cruzamientos M x G (10,03 mm) y G x St.CAT (10,42 mm). Cabe destacar que las progenies de estos dos cruzamientos han presentado también valores altos para *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *anchura del fruto*, *longitud del fruto* y *del hueso*.

*Índice de forma del hueso.-*

Para este carácter (Tabla 27), las progenies de M x A (1,63), A x M (1,65), ‘Manzanilla de Sevilla’ en polinización libre (1,67), M x St.CAT (1,71), CHR x M (1,73) y ASC x M (1,84) y ‘Gordal Sevillana’ (2,09) en polinización libre, han presentado los *índices de forma del hueso* más altos. Todo lo contrario que M x G (1,49), G x St.CAT (1,61) y M x CHR (1,62), con medias no diferentes estadísticamente, donde los valores medios han sido los más pequeños.

*Índice de madurez.-*

Los valores menores, con medias sin diferencias significativas, para *índice de madurez* (Tabla 27), se han obtenido para las progenies de A x M (1,49) y M x A (1,65). Los *índices de madurez* más altos se han obtenido para los cruzamientos M x CHR (1,77), M x G (1,61) y CHR x M (1,56).

**Tabla 27.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**) e índice de madurez (**IM**) por cruzamiento: **A x M**: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M**: ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre**: ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT**: ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M**: ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre**: ‘Gordal Libre’. **Frec**: Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado).*

Cruzamientos	LH			AH			IFH			IM		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
<b>A x M</b>	271	12,46ab	11,94	271	7,60a	10,11	271	1,65bcd	11,55	268	1,49a	59,71
<b>M x A</b>	110	12,29a	14,31	110	7,57a	10,83	110	1,63bcd	11,75	109	1,65ab	59,56
<b>M x CHR</b>	24	13,72bc	12,08	24	8,54b	12,24	24	1,62ab	13,07	23	1,77d	75,55
<b>M x G</b>	17	14,76d	17,04	17	10,03de	11,28	17	1,49a	19,99	18	1,61bcd	72,72
<b>CHR x M</b>	43	14,02c	10,73	43	8,19b	9,44	43	1,73bcd	12,45	43	1,56cd	53,43
<b>M Libre</b>	139	12,81b	15,35	139	7,76a	15,20	139	1,67cd	15,16	136	1,73bc	62,39
<b>M x St.CAT</b>	48	15,53d	15,80	48	9,21c	13,33	48	1,71bcd	14,03	47	1,11bc	59,79
<b>G x St.CAT</b>	10	16,45d	12,96	10	10,42e	13,89	10	1,61abc	9,40	10	1,13abcd	42,96
<b>ASC x M</b>	9	15,12cd	10,91	9	8,32ab	11,90	9	1,84d	11,27	9	0,93abcd	22,06
<b>G Libre</b>	1	17,29cd	0,00	1	8,29abcd	0,00	1	2,09d	0,00	1	1,64abcd	0,00

*Textura de la pulpa.-*

Para la *textura de la pulpa* (Tabla 28) los valores más altos se han alcanzado para las progenies de A x M (7,80 KN/100g) y M x A (7,82 KN/100g). Los cruzamientos G x St.CAT (5,24 KN/100g), M x St.CAT (6,07 KN/100g), M x G (6,43 KN/100g) y ‘Manzanilla de Sevilla’ en polinización libre (7,26 KN/100g) han presentado los valores más pequeños.

Los genotipos procedentes de CHR x M (6,52 KN/100g), M x CHR (6,69 KN/100g) y ASC x M (6,75 KN/100g) y ‘Gordal Sevillana’ en polinización libre (5,04 KN/100g) los valores no difieren significativamente del resto de cruzamientos.

*Rendimiento graso.-*

Para el carácter *rendimiento graso sobre peso fresco* (Tabla 28), el valor inferior ha correspondido a la progenie de A x M (10,11%), ‘Manzanilla de Sevilla’ en polinización libre (10,00%), M x St.CAT (7,03%) y G x St.CAT (6,05%). En cambio, los mayores valores se han obtenido para M x CHR (10,73%) y CHM x M (9,22%).

Para el *rendimiento graso sobre peso seco* (Tabla 28), la progenie de A x M (27,34%) ha presentado los valores más bajos. Por el contrario, los valores superiores se han obtenido para M x A y M x CHR con 30,20% y 29,14%, respectivamente. El resto de genotipos, procedentes de G x St.CAT (17,63%), M x St.CAT (20,63%), ASC x M (23,23%), CHR x M (25,17%), ‘Manzanilla de Sevilla’ en polinización libre (27,73%) y M x G (29,83%), presentan *rendimientos grasos* medios que no difieren significativamente del resto.

*Humedad del fruto.-*

Como se puede observar en la tabla 28, los genotipos de ASC x M (59,31%) presentan frutos con menor *humedad*. Por el contrario, el mayor porcentaje de humedad corresponde a las progenies de M x St.CAT (66,62%), M x A (63,77%), M x CHR (64,14%), M x G (65,94%), ‘Manzanilla de Sevilla’ en polinización libre (64,09%) y G x St.CAT (65,25%), que no presentan diferencias significativas entre sí.



**Tabla 28.-** Comparación de medias entre cruzamientos para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**) por cruzamiento: **A x M**: ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M x A**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’, **M x CHR**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’, **M x G**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’, **CHR x M**: ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’, **M Libre**: ‘Manzanilla Libre’, **M x St.CAT**: ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’, **G x St.CAT**: ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, **ASC x M**: ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **G Libre**: ‘Gordal Libre’. **Frec**: Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado).*

Cruzamientos	TEXT			RTO F			RTO S			HUM		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
<b>A x M</b>	277	7,80 <b>b</b>	19,84	282	10,11 <b>a</b>	33,25	282	27,34 <b>a</b>	27,41	282	63,38 <b>b</b>	5,92
<b>M x A</b>	111	7,82 <b>b</b>	17,12	100	11,06 <b>b</b>	30,47	100	30,20 <b>b</b>	23,11	100	63,77 <b>bcd</b>	7,05
<b>M x CHR</b>	13	6,69 <b>ab</b>	16,51	10	10,73 <b>c</b>	37,04	10	29,14 <b>b</b>	29,19	10	64,14 <b>bcd</b>	6,78
<b>M x G</b>	13	6,43 <b>a</b>	20,84	14	10,14 <b>abc</b>	24,87	14	29,83 <b>ab</b>	21,48	14	65,94 <b>cd</b>	5,76
<b>CHR x M</b>	29	6,52 <b>ab</b>	22,06	26	9,22 <b>bc</b>	34,48	26	25,17 <b>ab</b>	31,33	26	63,65 <b>bc</b>	4,33
<b>M Libre</b>	134	7,26 <b>a</b>	18,76	128	10,00 <b>ab</b>	35,21	128	27,73 <b>ab</b>	32,02	128	64,09 <b>bcd</b>	6,14
<b>M x St.CAT</b>	17	6,07 <b>a</b>	21,39	9	7,03 <b>ab</b>	44,36	9	20,63 <b>ab</b>	35,38	9	66,62 <b>d</b>	6,42
<b>G x St.CAT</b>	3	5,24 <b>a</b>	46,68	2	6,05 <b>ab</b>	111,03	2	17,63 <b>ab</b>	111,90	2	65,25 <b>bcd</b>	1,19
<b>ASC x M</b>	9	6,75 <b>ab</b>	26,23	8	9,48 <b>abc</b>	39,70	8	23,23 <b>ab</b>	37,12	8	59,31 <b>a</b>	3,13
<b>G Libre</b>	1	5,04 <b>ab</b>	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-

#### 1.1.3.3.2.- Análisis del cruzamiento recíproco ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla’ y ‘Manzanilla’ x ‘Arbequina’.-

Con los datos obtenidos en los cruzamientos de ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ (A x M) y ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’ (A x M) en los años 2007 y 2008 (**Diseño equilibrado**), se realizó un análisis de la varianza (**ANOVA**) con separación de medias por el **Test Tukey HSD** ( $P \leq 0,05$ ). En las tablas 29 y 30 se muestran las frecuencias y valores medios para los 14 parámetros evaluados.

Para los parámetros *producción*, *relación pulpa-hueso*, *longitud del hueso* (Tabla 29), *rendimiento graso sobre peso seco* y *humedad del fruto* (Tabla 30), se han obtenido diferencias significativas entre los cruzamientos anteriormente mencionados. Para todos ellos, excepto para *longitud del hueso* (Tabla 29), la progenie de A x M presentó valores inferiores que los genotipos procedentes de M x A.

A nivel de años, se han encontrado diferencias significativas para todos los caracteres evaluados, excepto para *índice de forma del fruto* (Tabla 29), *índice de forma del hueso*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *humedad del fruto* (Tabla 30). En 2007 se han alcanzado mayores valores para *peso del fruto* (2,61 g), *relación pulpa-hueso* (4,95), *longitud del fruto* (17,97 mm), *anchura del fruto* (15,16 mm), *longitud del hueso* (12,32 mm), *anchura del hueso* (7,64 mm) y *rendimiento graso sobre peso seco* (29,50%) (Tablas 29 y 30). Por el contrario, *producción* (17.502,10 g/genotipo), *índice de madurez* (1,94) y *textura de la pulpa* (8,09 KN/100g) han sido superiores para el año 2008 (Tablas 29 y 30).

**Tabla 29.-** Comparación de medias entre los cruzamientos (**A x M** y **M x A**) y años (2007 y 2008) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**) y longitud del hueso (mm) (**LH**). **Frec:** Frecuencia. **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’. *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2007 y 2008) (Diseño equilibrado). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).*

	PROD		PF		P/H		LF		AF		IFF		LH	
	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media
<b>A x M</b>	212	12.014,20a	208	2,19a	198	4,45a	128	17,29a	128	14,44a	128	1,20a	128	12,20b
<b>M x A</b>	82	14.407,80b	78	2,31a	74	5,07b	52	17,37a	52	14,82a	52	1,18a	52	11,57a
<b>Año 2007</b>	147	8.919,92a	143	2,61b	136	4,95b	90	17,97b	90	15,16b	90	1,19a	90	12,32b
<b>Año 2008</b>	147	17.502,10b	143	1,89a	136	4,58a	90	16,69a	90	14,10a	90	1,19a	90	11,45a

**Tabla 30.-** Comparación de medias entre los cruzamientos (**A x M** y **M x A**) y años (2007 y 2008) para los parámetros: anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). **Frec:** Frecuencia. **A x M:** ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ y **M x A:** ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’. *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2007 y 2008) (Diseño equilibrado). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).*

	AH		IFH		IM		TEXT		RTO F		RTO S		HUM	
	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media	Frec	Media
<b>A x M</b>	128	7,45a	128	1,65a	128	1,57a	182	7,91a	186	9,83a	186	26,96a	186	63,84a
<b>M x A</b>	52	7,32a	52	1,59a	52	1,64a	72	7,75a	54	10,35a	54	29,67b	54	65,32b
<b>Año 2007</b>	90	7,64b	90	1,63a	90	1,28a	127	7,56a	120	10,50a	120	29,50b	120	64,58a
<b>Año 2008</b>	90	7,13a	90	1,62a	90	1,94b	127	8,09b	120	9,67a	120	27,13a	120	64,58a

#### 1.1.3.4.- Influencia de los progenitores en los parámetros estudiados.-

##### 1.1.3.4.1.- Influencia del progenitor femenino.-

En las tablas 31, 32, 33 y 34 se muestra la comparación de medias por el **Test Tukey HSD** ( $P \leq 0,05$ ) según el progenitor femenino (♀) para los 14 parámetros y años evaluados (2006, 2007, 2008 y 2009) (**Diseño no equilibrado**). Las frecuencias de los datos y los coeficientes de variación (%) obtenidos para cada carácter, también se indican en las correspondientes tablas.

Se han encontrado diferencias significativas para los valores medios de todos los caracteres, excepto para *índice de forma del hueso*, *índice de madurez*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco*.

Al igual que en los cruzamientos (Tablas 25, 26, 27 y 28), se ha obtenido una alta variabilidad en todos los caracteres analizados. Para *producción*, *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *índice de madurez*, *textura de la pulpa*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco*, los coeficientes de variación han resultado ser superiores que para el resto de parámetros. Los valores más bajos se han obtenido para la *humedad del fruto* (1,19-6,55%) (Tabla 34) e *índice de forma del fruto* (7,53-9,15%) (Tabla 32).

Al utilizar ‘Manzanilla de Sevilla’ (9.285,34 g/genotipo) ó ‘Arbequina’ (9.526,05 g/genotipo) como progenitor femenino en los diferentes cruzamientos, la *producción* obtenida en la progenie se incrementa. Por el contrario, si se emplea ‘Changlot Real’ (736,25 g/genotipo) la *producción* es significativamente menor. ‘Ascolana Tenera’ (2.320,00 g/genotipo) no difiere del resto de madres (Tabla 31). Para la *humedad del fruto*, es de nuevo ‘Ascolana Tenera’ el único progenitor femenino que presenta valores significativamente inferiores al resto (Tabla 34).

El valor medio obtenido para el *peso del fruto* (Tabla 31), utilizando como progenitor femenino ‘Gordal Sevillana’ (5,82 g), ha sido superior y significativamente distinto al resto de las madres evaluadas. ‘Arbequina’ (2,24 g) y ‘Ascolana Tenera’ (2,67 g), con valores que no difieren significativamente entre sí, han resultado ser las madres de las progenies con menor peso de fruto. Resultados similares se han obtenido, para los progenitores mencionados, en *relación pulpa-hueso* (Tabla 31), *anchura del fruto* (Tabla 32) y *anchura del hueso* (Tabla 33).

Si comparamos los parámetros relacionados con la forma (*longitud* y *anchura*) del fruto (Tabla 32) y del hueso (Tabla 33), podemos observar en las progenies obtenidas para los diferentes progenitores femeninos que ‘Gordal Sevillana’ presenta los valores más altos para todos los parámetros mencionados y ‘Arbequina’ los más pequeños. Además,

‘Ascolana Tenera’ no presenta diferencias significativas con ‘Arbequina’, presentando los valores más bajos de ambas *anchuras (fruto y hueso)*.

Para la mayoría de los parámetros, ‘Gordal Sevillana’ se localiza dentro de las madres con mayores medias, excepto para el *índice de forma del fruto* (Tabla 32) y *textura de la pulpa* (Tabla 34). Por el contrario, ‘Arbequina’ se encuentra entre las madres con menores medias para todos los parámetros, excepto para *producción* (Tabla 31), *textura de la pulpa* (Tabla 34) y *humedad del fruto* (Tabla 34).

**Tabla 31.-** Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**) y relación pulpa-hueso (**P/H**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). Frec: Frecuencia y CV (%): Coeficiente de variación. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).

Cruzamientos	PROD			PF			P/H		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
‘Changlot Real’	16	736,25a	137,05	41	3,08b	25,11	40	5,71bc	29,08
‘Ascolana Tenera’	2	2.320,00ab	104,85	11	2,67ab	35,06	11	3,98a	31,52
‘Manzanilla de Sevilla’	289	9.285,34b	98,35	379	3,05b	54,01	365	5,44b	32,13
‘Arbequina’	297	9.526,05b	82,18	321	2,24a	31,52	309	4,53a	24,16
‘Gordal Sevillana’	-	-	-	12	5,82c	22,00	12	6,84c	26,94

**Tabla 32.-** Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**) e índice de forma del fruto (**IFF**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). Frec: Frecuencia y CV (%): Coeficiente de variación. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).

Cruzamientos	LF			AF			IFF		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
‘Changlot Real’	43	20,32b	9,34	43	16,28b	10,32	43	1,26bc	8,37
‘Ascolana Tenera’	9	20,42b	10,40	9	15,38ab	15,05	9	1,34c	8,65
‘Manzanilla de Sevilla’	244	19,58b	16,70	340	16,26b	17,42	340	1,20a	9,15
‘Arbequina’	169	17,43a	10,89	273	14,75a	10,41	273	1,20a	7,53
‘Gordal Sevillana’	11	24,40c	9,13	11	20,26c	6,74	11	1,21ab	7,82

**Tabla 33.-** Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**) e índice de madurez (**IM**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec:* Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).*

Cruzamientos	LH			AH			IFH			IM		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
‘Changlot Real’	43	20,32b	9,34	43	8,19b	9,44	43	1,73a	12,45	43	1,56a	53,43
‘Ascolana Tenera’	9	20,42b	10,40	9	8,32ab	11,90	9	1,84a	11,27	9	0,93a	22,06
‘Manzanilla de Sevilla’	340	19,42b	16,14	338	8,08b	15,89	338	1,65a	14,29	333	1,61a	64,46
‘Arbequina’	273	17,69a	10,71	271	7,60a	10,11	271	1,65a	11,55	268	1,49a	59,71
‘Gordal Sevillana’	11	24,40c	9,13	11	10,23c	14,83	11	1,66a	12,30	11	1,17a	41,29

**Tabla 34.-** Comparación de medias según el progenitor femenino (♀) para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec:* Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).*

Cruzamientos	TEXT			RTO F			RTO S			HUM		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
‘Changlot Real’	29	6,52a	22,06	26	9,22a	34,48	26	25,17a	31,33	26	63,65b	4,33
‘Ascolana Tenera’	9	6,75abc	26,23	8	9,48a	39,70	8	23,23a	37,12	8	59,31a	3,13
‘Manzanilla de Sevilla’	288	7,34b	19,31	261	10,34a	33,76	261	28,60a	28,60	261	64,16b	6,55
‘Arbequina’	277	7,80c	19,84	282	10,11a	33,25	282	27,34a	27,41	282	63,38b	5,92
‘Gordal Sevillana’	4	5,19a	38,54	2	6,05a	111,03	2	17,63a	111,90	2	65,25ab	1,19

## 1.1.3.4.2.- Influencia del progenitor masculino.-

La comparación de medias por el **Test Tukey HSD** ( $P \leq 0,05$ ) según los progenitores masculinos (♂) para los 14 parámetros y años (2006, 2007, 2008 y 2009) evaluados (**Diseño no equilibrado**) se pueden observar en las tablas 35, 36, 37 y 38. Las correspondientes frecuencias y los coeficientes de variación (%) obtenidos para cada carácter, también se indican en dichas tablas.

Las diferencias significativas encontradas en función del progenitor masculino, han sido mayores que las obtenidas con el progenitor femenino. Sólo la *humedad del fruto* no presentó diferencias significativas entre parentales masculinos (Tabla 38). Para los caracteres *peso del fruto* (Tabla 35) y *anchura del fruto* (Tabla 36), se han obtenido más padres con diferencias significativas que para los demás parámetros.

Se ha obtenido una alta variabilidad para algunos de los caracteres analizados, quedando reflejada en los altos coeficientes de variación (%) observados. Resaltar *producción* (86,22-138,32%) e *índice de madurez* (56,80-75,55%) como los valores más altos (Tablas 35 y 37, respectivamente). Por el contrario, los valores más bajos han resultado ser para el *índice de forma del fruto* (7,14-11,18%) (Tabla 36) y *humedad del fruto* (5,76-7,05%) (Tabla 38).

Se puede observar que ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Arbequina’, utilizados como padres en los diferentes cruzamientos, no han diferido de forma significativa para ninguno de los caracteres, excepto para el *rendimiento graso sobre peso seco* (Tabla 38). En líneas generales, para la progenie procedente de ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Arbequina, como progenitores masculinos, se obtienen menores valores para: *peso del fruto* (Tabla 35), *relación pulpa-hueso* (Tabla 35), longitud y *anchura del fruto* (Tabla 36) y longitud y *anchura del hueso* (Tabla 37).

‘Gordal Sevillana’, se ha encontrado entre los padres cuya progenie ha obtenido mayores medias, pero no tan claramente como sucedía al utilizarlo como progenitor femenino. Para los caracteres *peso del fruto* (5,79 g) (Tabla 35) y *anchura del fruto* (20,87 mm) (Tabla 36), ‘Gordal Sevillana’ ha alcanzado valores superiores, estadísticamente diferentes que el resto de los progenitores. Por el contrario, para *producción* (5.693,19 g/genotipo) (Tabla 35) e *índice de forma del hueso* (1,49) (Tabla 37), la progenie obtenida ha presentado los valores más bajos, respecto al resto de progenitores masculinos.



**Tabla 35.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**) y relación pulpa-hueso (**P/H**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). **Frec:** Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).

Cruzamientos	PROD			PF			P/H		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
‘Santa Caterina’	1	80,00ab	0,00	59	4,88c	29,03	59	6,48b	25,54
‘Changlot Real’	4	360,00ab	111,94	19	3,84b	45,97	19	6,43b	32,99
‘Manzanilla de Sevilla’	315	9.033,83ab	87,06	373	2,35a	32,69	360	4,64a	26,58
‘Arbequina’	120	11.157,50b	86,22	130	2,37a	30,65	122	5,02a	26,79
‘Gordal Sevillana’	23	5.693,19a	138,32	24	5,79d	37,82	23	7,22b	31,78

**Tabla 36.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**) e índice de forma del fruto (**IFF**). Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). **Frec:** Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).

Cruzamientos	LF			AF			IFF		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
‘Santa Caterina’	59	22,91c	11,32	59	19,08c	9,95	59	1,20b	7,36
‘Changlot Real’	24	20,57b	12,79	24	17,21b	13,07	24	1,20ab	7,14
‘Manzanilla de Sevilla’	221	18,11a	12,51	325	14,97a	11,08	325	1,21b	7,99
‘Arbequina’	67	17,83a	10,21	110	15,21a	10,65	110	1,20ab	7,54
‘Gordal Sevillana’	13	22,98c	10,53	18	20,87d	11,00	18	1,13a	11,18

**Tabla 37.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**) e índice de madurez (**IM**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec:* Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).*

Cruzamientos	LH			AH			IFH			IM		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
‘Santa Caterina’	59	22,91c	11,32	58	9,42c	14,20	58	1,69b	13,54	57	1,11a	56,80
‘Changlot Real’	24	20,57b	12,79	24	8,54b	12,24	24	1,62ab	13,07	23	1,77b	75,55
‘Manzanilla de Sevilla’	325	18,12a	11,76	323	7,70a	10,46	323	1,67b	11,85	320	1,48b	58,94
‘Arbequina’	110	18,11a	10,88	110	7,57a	10,83	110	1,63ab	11,75	109	1,65b	59,56
‘Gordal Sevillana’	18	23,44c	9,99	17	10,03c	11,28	17	1,49a	19,99	18	1,61ab	72,72

**Tabla 38.-** Comparación de medias según el progenitor masculino (♂) para los parámetros: textura de la pulpa (KN/100g) (**TEXT**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**) y humedad del fruto (%) (**HUM**). *Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (Diseño no equilibrado). Frec:* Frecuencia y **CV (%)**: Coeficiente de variación. *Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (Test de Tukey HSD,  $P \leq 0,05$ ).*

Cruzamientos	TEXT			RTO F			RTO S			HUM		
	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)	Frec	Media	CV (%)
‘Santa Caterina’	20	5,94a	24,61	11	6,85a	51,49	11	20,09a	45,36	11	66,37a	5,84
‘Changlot Real’	13	6,69ab	16,51	10	10,73ab	37,04	10	29,14bc	29,19	10	64,14a	6,78
‘Manzanilla de Sevilla’	315	7,66b	20,79	316	10,02b	33,49	316	27,06b	28,00	316	63,30a	5,84
‘Arbequina’	111	7,82b	17,12	100	11,06b	30,47	100	30,20c	23,11	100	63,77a	7,05
‘Gordal Sevillana’	13	6,43a	20,84	14	10,14ab	24,87	14	29,83bc	21,48	14	65,94a	5,76

#### **1.1.4.- DISCUSIÓN.-**

##### **1.1.4.1.- Variabilidad observada en la progenie.-**

##### **Coefficientes de variación.-**

En líneas generales, se ha obtenido una alta variabilidad para los 14 parámetros analizados en este trabajo, alcanzándose para algunos de ellos altos coeficientes de variación: *producción* (Figuras 12 y 13; Tablas 8 y 9), *peso del fruto* (Figura 14 y Tabla 10), *relación pulpa-hueso* (Figura 15 y Tabla 11), *índice de madurez* (Figura 22 y Tabla 18), *textura de la pulpa* (Figura 23 y Tabla 19), *rendimiento graso sobre peso fresco* (Figura 24 y Tabla 20) y *sobre peso seco* (Figura 25 y Tabla 21). Para *longitud del fruto* (Figura 16 y Tabla 12), *anchura del fruto* (Figura 17 y Tabla 13), *longitud del hueso* (Figura 19 y Tabla 15), *anchura del hueso* (Figura 20 y Tabla 16) e *índice de forma del hueso* (Figura 21 y Tabla 17), los coeficientes de variación han sido inferiores (9-18%), pero lo suficientemente altos para permitir la selección de individuos interesantes dentro del programa de mejora de aceituna de mesa. Cabe destacar que los coeficientes de variación (%) obtenidos para los parámetros *índice de forma del fruto* (Figura 18 y Tabla 14) y *humedad del fruto* (Figura 26 y Tabla 22) han presentado valores más bajos (menor del 9%) que el resto de caracteres analizados.

Recientemente, en estudios realizados en acebuches por Belaj *et al.* (2011), se obtuvieron resultados similares con el máximo coeficiente de variación para peso del fruto y mínimo para la anchura del hueso, encontrándose además, una alta variabilidad para peso del hueso y contenido en aceite, tanto en seco como en fresco.

Las especies propagadas vegetativamente, como es el caso del olivo, generan elevada segregación de caracteres en las progenies cuando se reproducen sexualmente (por semilla) ya que se trata de especies altamente heterocigóticas (Allard, 1960). La amplia variabilidad obtenida en este trabajo para todos los caracteres, excepto para *índice de forma del fruto* y *humedad del fruto*, pone de manifiesto esta observación y permite la posibilidad de seleccionar genotipos en esta primera fase de evaluación (*progenie*). Por lo tanto, estos resultados representan una base adecuada para obtener nuevas variedades de aceituna de mesa.

Esta alta variabilidad también fue observada por Fontanazza *et al.* (1999) para peso del fruto, longitud del fruto, anchura del fruto, relación pulpa-hueso, longitud y anchura del hueso. Sin embargo, fue estudiada en la progenie de un sólo cruzamiento entre una variedad de aceite y otra de doble aptitud y para un menor número de años.

En trabajos más amplios sobre progenies de olivo para aceite, también se confirmó una alta variabilidad para peso del fruto, relación pulpa-hueso, contenido de aceite (León *et al.*, 2004d; León y Rallo, 2002), humedad de la pulpa (León *et al.*, 2004d) y fuerza del retención del fruto (León *et al.*, 2005a). En posteriores trabajos con poblaciones segregantes de olivo para aceite, también se ha confirmado un amplio rango de variabilidad para contenido de fenoles totales e individuales en el aceite (El Riachy *et al.*, 2012a; El Riachy *et al.*, 2012b). Resultados similares fueron obtenidos para la composición de ácidos grasos en progenies (León *et al.*, 2004e) y, recientemente, en selecciones avanzadas de olivo (León *et al.*, 2011a).

Asimismo, los coeficientes de variación para el carácter *producción* obtenidos tanto en el año 2006 (Tabla 8) como los obtenidos por los genotipos en su primera cosecha (independientemente del año) (Tabla 9) han superado el 100%. La producción de un olivo está determinada, entre otros aspectos, por causas intrínsecas del propio árbol (vecería) o por las condiciones meteorológicas en zona de cultivo (Rallo y Cuevas, 2008).

El coeficiente de variación obtenido en nuestro trabajo para la *producción acumulada* (79,82%) (Tabla 8), fue superior al obtenido en cultivares del Banco de Germoplasma de Córdoba (61,00%) (Del Río *et al.*, 2005a) y de Cataluña (49,00%) (Tous *et al.*, 2005). Asimismo, para el conjunto de todos los años, se han alcanzado coeficientes de variación más altos para peso del fruto, relación pulpa-hueso y rendimiento graso sobre peso seco que en dichos Bancos (Del Río *et al.*, 2005b; Tous y Romero, 2005). En general, las progenies de nuestro trabajo han mostrado un rango de variabilidad ligeramente superior al observado en los cultivares de ambos Bancos de Germoplasma.

#### **Comparación con los progenitores.-**

En los histogramas de frecuencia de cada parámetro y periodo evaluado, se han indicado los valores de los progenitores. En algunos casos, no se disponía de datos para todos ellos (Figura 12 a Figura 26).

En líneas generales, para todos los caracteres y años estudiados en este trabajo, las medias de ‘Arbequina’ y ‘Gordal Sevillana’ fueron las de menor y mayor valor respectivamente, situándose ‘Manzanilla de Sevilla’ y la media de la progenie entre ambos. El *índice de madurez* (Figura 22), *textura de la pulpa* (Figura 23), *rendimiento graso sobre peso fresco* (Figura 24) y *sobre peso seco* (Figura 25), fueron las excepciones. Asimismo, la progenie obtuvo medias inferiores a todos los progenitores

para *rendimiento graso*, tanto sobre *peso fresco* como sobre *peso seco* (año 2007 y conjunto de todos los años) (Figuras 24 y 25, respectivamente) y *humedad del fruto* (años 2007 y 2009) (Figura 26).

Para los caracteres *producción* (año 2007 y 2008) (Figura 12), *peso del fruto* (año 2009) (Figura 14), *longitud del fruto* (año 2009) (Figura 16), *anchura del fruto* (año 2009) (Figura 17), *longitud del hueso* (año 2009) (Figura 19), *anchura del hueso* (año 2008) (Figura 20), *índice de madurez* (Figura 22) y *textura de la pulpa* (año 2007) (Figura 23), la media de la progenie fue superior a la de todos los progenitores. Por lo tanto, estos resultados nos proporcionan información interesante sobre el potencial de estos nuevos genotipos y la posibilidad de seleccionarlos dentro del programa de mejora.

Resultados similares se han publicado para peso del fruto, humedad del fruto (León *et al.*, 2004d), porcentaje de la pulpa (Ersoy *et al.*, 2008), contenido de aceite (León *et al.*, 2004d) y composición de fenoles totales e individuales (El Riachy *et al.*, 2012a; El Riachy *et al.*, 2012b). En todos estos trabajos, algunas de las progenies obtenidas por cruzamiento entre cultivares de doble aptitud (Ersoy *et al.*, 2008) o de aceite (El Riachy *et al.*, 2012a; El Riachy *et al.*, 2012b; León *et al.*, 2004d), obtuvieron mayores valores que algunos de los progenitores evaluados. En estudios posteriores con selecciones avanzadas de olivo también se han obtenido los mismos resultados para peso del fruto, humedad de la pulpa, contenido en aceite (De la Rosa *et al.*, 2008), producción y vigor (León *et al.*, 2007a).

#### **Valores para los distintos parámetros.-**

##### *Producción acumulada*

El valor máximo de la *producción acumulada*, obtenido por la progenie en los tres años evaluados, prácticamente se duplicó (63.465,00 g/genotipo), con respecto a la máxima *producción* alcanzada por algunos genotipos en el año 2008 (35.080,00 g/genotipo) (Tabla 8). Por lo tanto, será la *producción acumulada* a lo largo de varios años un parámetro a considerar en el programa de mejora. En progenies de olivo (León *et al.*, 2004d) y selecciones avanzadas (León *et al.*, 2007a) se obtuvo también un aumento en la producción acumulada por árbol en los periodos considerados.

En nuestro trabajo, la *producción acumulada* media obtenida por la progenie (19.606,00 g/genotipo) (Tabla 8), coincide con la media alcanzada por los cultivares del Banco de Germoplasma de Córdoba, en sus tres primeras cosechas (Del Río *et al.*, 2005a). En cambio, si lo comparamos con el Banco de Germoplasma de Cataluña (13,50 kg/árbol),

comprobamos que la media obtenida en nuestro trabajo es claramente superior (Tous *et al.*, 2005).

Aunque en el presente trabajo se han logrado resultados interesantes para el parámetro *producción*, resulta complejo y laborioso de evaluar en esta primera fase del programa de mejora puesto que exige la recolección completa de cada árbol. Además se trata de un parámetro fuertemente influido por el ambiente, y en la fase de progenies se cuenta sólo con una repetición (árbol) por genotipo. Por lo tanto, su evaluación debe realizarse en etapas avanzadas (*preselecciones* y *selecciones avanzadas*), donde se dispone de un mayor número de repeticiones y menor número de genotipos. A pesar de que incrementar el rendimiento es uno de los objetivos principales de cualquier mejorador, la mayoría de los programas lo estiman en las fases finales (León *et al.*, 2004d).

#### *Peso del fruto*

Para los años evaluados, los valores de *peso del fruto* para los diferentes genotipos han variado entre 0,70 y 10,40 g (ambos para el año 2008) (Tabla 10). Estos resultados son similares a los obtenidos por los cultivares del Banco de Germoplasma de Córdoba (1,00-10,40 g) (Del Río *et al.*, 2005b). Asimismo, la progenie alcanzó valores medios comprendidos entre 2,22 (2008) y 3,54 g (2009). Aunque la mayor parte de los genotipos se encuentran dentro de los valores medios, propuestos por Barranco *et al.* (2005) (2-4 g), existe suficiente variabilidad para realizar una selección de individuos para cualquier peso de fruto (Figura 14).

#### *Relación pulpa-hueso*

En cuanto a la *relación pulpa-hueso*, los valores medios fueron inferiores a 6,00 y, por tanto, considerados como bajos por Del Río *et al.* (2005b) (4,70-6,20). Sin embargo, se ha observado una alta segregación en la progenie evaluada, con valores comprendidos entre 1,73 (2009) y 14,60 (2008) (Tabla 11). Esto supone una variabilidad ligeramente superior a los cultivares del Banco de Germoplasma de Córdoba (4,00-13,70) (Del Río *et al.*, 2005b). Sin duda, este carácter será uno de los criterios más restrictivos en fases posteriores del programa de mejora.

Los valores medios alcanzados por la progenie en el conjunto de los años para *peso del fruto* (2,75 g) (Tabla 10) y *relación pulpa-hueso* (5,08) (Tabla 11) han sido superiores a los obtenidos, con un menor número de cultivares, en el Banco de Germoplasma de Cataluña (2,60 g y 4,40, respectivamente) (Tous y Romero, 2005). Por otra parte, los valores medios obtenidos por León *et al.* (2004d) en progenie de olivo para peso del

fruto y relación pulpa-hueso en fresco, fueron ligeramente superiores a los alcanzados en este estudio.

#### *Índice de forma del fruto*

La forma de la aceituna, determinada por la relación entre longitud y *anchura del fruto*, también se considera un parámetro de calidad. Para todos los años evaluados, las medias obtenidas por la progenie para el *índice de forma del fruto* estuvieron comprendidas entre 1,19 (2006 y 2008) y 1,24 (2009), siendo de 1,21 para el conjunto de todos los años (Tabla 14). Del mismo modo, el valor medio alcanzado por la progenie para el *índice de forma del hueso* fue de 1,66 (conjunto de todos los años) (Tabla 17). Según Barranco *et al.* (2005), estos valores corresponden a una forma esférica ( $<1,25$ ) para el caso del fruto y ovoidal (1,40-1,80) para el hueso. Es interesante resaltar que la forma esférica de los frutos es muy apreciada en la industria de la aceituna de mesa. Otros autores como Bellini *et al.* (2002a) encontraron que la mayoría de los frutos de la progenie, entre un cultivar de doble aptitud y otro de mesa, fueron elípticas y ovaladas.

#### *Índice de madurez*

Para los años considerados, la mayoría de los frutos presentó un *índice de madurez* comprendido entre 0,00 (2007 y 2008) y 6,04 (2008). Sin embargo, el valor medio de la progenie varió entre 1,10 (2009) y 2,22 (2008), siendo de 1,54 para el conjunto de todos los años (Tabla 18). Estos resultados eran previsibles, ya que los frutos se recogen en verde para un posible procesado en verde o “estilo sevillano”. El hecho de que algunos frutos tuvieran valores altos (mayor de 2,00), indican una variabilidad fenológica a nivel de fecha de maduración. Este aspecto puede ser interesante para una posible selección de variedades con diferentes fechas de recolección. No obstante, en esta primera fase de evaluación, el *índice de madurez* no será un criterio a tener en cuenta.

#### *Textura del fruto*

La *textura de la aceituna* es también un parámetro muy valorado por el consumidor y la industria, pues facilita operaciones posteriores a la fermentación como el deshuesado y el rellenado con diferentes productos (Garrido-Fernández *et al.*, 1997). La textura de la pulpa disminuye con el tratamiento de aderezo, por lo que resulta interesante que sea elevada antes de este proceso. Una vez aderezada la aceituna, se sabe que el rango óptimo para este carácter se sitúa en torno a 2,0-3,5 kN/100g (Rejano, comunicación personal). Los valores finales dependerán tanto de la textura inicial en fresco como del tiempo de cocido.



Para los años evaluados, los valores de *textura de la pulpa* para los diferentes genotipos han variado entre 2,12 y 11,95 kN/100g (ambos para el año 2006). El valor medio ha estado comprendido entre 6,50 (2009) y 8,14 kN/100g (2006), siendo 7,49 kN/100g para el conjunto de todos los años (Tabla 19). La mayoría de los genotipos presentaron texturas superiores a los valores recomendados considerándose, por lo tanto, aptos para el aderezo. Genotipos con valores inferiores de *textura* podrían ser también seleccionados, siempre que se redujera el tiempo de cocido en la industria y que este tiempo fuera suficiente para reducir el amargor, característico de las aceitunas.

#### *Rendimiento graso*

Actualmente, parece necesaria la obtención de variedades de aceituna con bajo rendimiento graso. Sin embargo, la selección de genotipos con un contenido en aceite elevado y una calidad buena, es decir de doble aptitud, permitiría al agricultor destinar la cosecha al mercado de aderezo o almazara en función del año, que es lo que sucede hoy en día con ‘Hojiblanca’ y ‘Manzanilla de Sevilla’.

En nuestro trabajo, las medias alcanzadas por los diferentes genotipos para el *rendimiento graso sobre peso seco* han presentado valores altos (22,75% (2009) y 33,82% (2006)) (Tabla 21), según Barranco *et al.* (2005) (>22,00%). Para el conjunto de todos los años el valor medio fue de 27,72%. Estos resultados difieren mucho de lo alcanzado por cultivares de olivo en el Banco de Germoplasma de Córdoba (45,00%) (Del Río *et al.*, 2005b) y el de Cataluña (47,00%) (Tous y Romero, 2005). El valor mínimo obtenido por la progenie fue de 3,68% (2009) y el máximo de 47,68% (2007).

#### **1.1.4.2.- Estudios de la varianza y de la repetibilidad de los caracteres.-**

Los resultados obtenidos en el análisis de la varianza por genotipo, año y residual (que incluye interacción ‘genotipo x año’ y otros efectos no explicados), mostraron que las variaciones debidas al genotipo fueron altas para todos los caracteres evaluados, excepto para *producción* e *índice de madurez* (Tabla 23). Se han obtenido diferencias significativas entre genotipo y año para todos los parámetros evaluados, excepto para el *índice de forma de hueso* (para el año). Para caracteres morfológicos del fruto, evaluados en progenies de olivo obtenidas entre distintas variedades de aceite y de mesa, se han publicado resultados similares (Zeinanloo *et al.*, 2009).

En progenies de olivo para aceite también han sido encontradas estas diferencias, para peso del fruto, producción, relación pulpa-hueso, contenido en aceite y humedad del



fruto (sólo para el año) (León *et al.*, 2004d), composición fenólica (El Riachy *et al.*, 2012a) y fuerza de retención del fruto (León *et al.*, 2005a).

Para *peso del fruto, relación pulpa-hueso, longitud del fruto, índice de forma del fruto, longitud del hueso, anchura del hueso, índice de forma del hueso, textura de la pulpa y humedad del fruto*, el mayor porcentaje de la varianza fue debida al genotipo, seguido de residual y año (Tabla 23). Estos resultados indican la posibilidad de realizar una selección de genotipos en base a estos parámetros.

Zeinanloo *et al.* (2009) han publicado resultados similares para anchura del hueso, longitud de hueso y relación pulpa-hueso. Otros autores han obtenido los mismos resultados al evaluar en progenie de olivo el contenido en aceite, tanto en peso seco como en peso fresco (León *et al.*, 2004d), ácidos grasos (León *et al.*, 2004c), contenido de algunos fenoles en aceite de oliva (El Riachy *et al.*, 2012a) y en acebuches para caracteres morfológicos del fruto y del hueso (peso, longitud y anchura, entre otros) (Belaj *et al.*, 2011).

Asimismo, en los Bancos de Germoplasma de Córdoba y Cataluña, la mayor fuente de variación para las colecciones de olivo evaluadas fue debida a la variedad, para peso del fruto, relación pulpa-hueso y contenido en aceite sobre peso seco (Del Río *et al.*, 2005b; Tous y Romero, 2005).

Para *índice de madurez* el residual representó la mayor fuente de variación, seguido de genotipo y año (Tabla 23). Otros autores obtuvieron resultados similares para parámetros distintos León *et al.* (2005a).

En este trabajo, el porcentaje de la varianza debido al año sólo fue superior a genotipo y residual para el parámetro *producción* (Tabla 23). Sin embargo, en otros estudios, se encontró que el año fue el factor que más contribuyó a la varianza para relación pulpa-hueso, peso y anchura del fruto (Fontanazza *et al.*, 1999; León *et al.*, 2004d; Zeinanloo *et al.*, 2009), longitud del fruto, contenido de aceite (Zeinanloo *et al.*, 2009), producción y humedad de la pulpa (León *et al.*, 2004d), algunos de los fenoles del aceite de oliva (El Riachy *et al.*, 2012a) y para varios ácidos grasos evaluados (León *et al.*, 2004e). En estos dos últimos trabajos y el realizado por Fontanazza *et al.* (1999), el periodo de evaluación y el número de cruzamientos fue menor que en nuestro caso.

En la evaluación de cultivares en el Banco de Germoplasma de Córdoba (Del Río *et al.*, 2005a), reveló que la interacción ‘variedad x año’ y el factor año fueron las mayores fuentes de variación para el parámetro producción. Por el contrario, en el Banco de Cataluña, Tous *et al.* (2005) fue la variedad, seguida de la interacción ‘variedad x año’.

En ambos trabajos, la evaluación de este carácter en las distintas variedades fue realizada con un número bajo de cultivares (57 y 30, respectivamente) y un escaso número (sólo 2) de árboles por cultivar.

Por otro lado, para todos los caracteres evaluados, excepto *producción*, se han alcanzado los mayores porcentajes de suma de cuadrados para ‘genotipos dentro del cruzamiento’ (Figura 27). Superiores al 80% para *índice de forma del fruto*, *índice de forma del hueso*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *humedad del fruto*. Para *relación pulpa-hueso*, *longitud del hueso*, *índice de madurez*, *textura de la pulpa* y *rendimiento graso en peso seco* fueron algo menores, pero superiores al 60%. Estos resultados indican que, para obtener una alta variabilidad, resulta más eficaz evaluar un mayor número de individuos dentro del mismo cruzamiento, que varios cruzamientos con menor número de individuos. Resultados similares se han obtenido en poblaciones segregantes de olivo para el contenido de fenoles en aceite (El Riachy *et al.*, 2012a; El Riachy *et al.*, 2012b).

En selecciones avanzadas de olivo, el genotipo ha sido el que más ha contribuido a la suma de cuadrados para la fecha de maduración, peso del fruto, contenido en aceite, humedad de la pulpa (De la Rosa *et al.*, 2008), ácidos grasos (León *et al.*, 2008) y eficiencia de la producción (León *et al.*, 2007a). Por el contrario, para el carácter producción, fue el error experimental la principal fuente de variación (León *et al.*, 2007a).

En otras especies como melocotón, Albuquerque *et al.* (2004) observaron que para la firmeza, seguido del peso del fruto, longitud del fruto, diámetro del fruto, relación pulpa-hueso, peso del hueso y relación longitud-diámetro el mayor porcentaje de la suma de cuadrados se debió a ‘entre cultivares’.

Para todos los parámetros evaluados, el factor ‘entre cruzamiento’ ha contribuido de manera significativa al total de la suma de cuadrados (Figura 27). Idénticos resultados fueron publicados para olivo (El Riachy *et al.*, 2012a) y para melocotón (Albuquerque *et al.*, 2004).

**Repetibilidad.-**

La partición de la varianza para el cálculo de la repetibilidad resulta de interés para predecir el comportamiento futuro de un carácter, a partir de observaciones realizadas con anterioridad (Falconer, 1989).

Para todos los caracteres de calidad evaluados en nuestro trabajo, se han obtenido valores de repetibilidad (**R**) superiores a 0,70 (Tabla 23). Para muchos de ellos ha sido incluso superior a 0,90 (*peso del fruto, anchura del fruto, índice de forma del fruto, longitud del hueso, índice de forma del hueso, rendimiento graso tanto en fresco como en seco y humedad del fruto*). Asimismo, los valores más bajos de repetibilidad se han obtenido para *producción* (0,71) e *índice de madurez* (0,74) y, con valores intermedios (0,77-0,87), *relación pulpa-hueso, longitud del fruto, anchura del hueso y textura de la pulpa* (Tabla 23). En progenies de olivo, León *et al.* (2004d) se alcanzaron para *producción, peso del fruto, relación pulpa-hueso, humedad del fruto y contenido en aceite* valores de repetibilidad inferiores a los obtenidos en este trabajo.

La alta repetibilidad obtenida para *peso del fruto, relación pulpa-hueso, rendimiento graso sobre peso fresco y sobre peso seco*, ofrece una información fiable de los valores a obtener en campañas posteriores. La alta repetibilidad resulta útil para predecir el valor real por genotipo, con un relativo bajo número de medidas (Cornacchia *et al.*, 1995). Por lo tanto, estos resultados sugieren que los valores obtenidos en el primer año son una base sólida para sucesivos años. A conclusiones similares llegaron León *et al.* (2004c), al evaluar dos años consecutivos la composición de ácidos grasos en progenie de olivo.

Los parámetros *peso del fruto, relación pulpa-hueso, rendimiento graso sobre peso fresco y sobre peso seco* son, además, poco variables (con valores intermedios de coeficientes de variación) (Tabla 23). Si a esto se le añade que el genotipo representa la mayor parte de la varianza total, es posible evaluar más fácilmente estos caracteres de calidad, que son de gran interés en aceituna de mesa. De esta forma, se optimiza el tiempo y los recursos en la primera fase de evaluación de la progenie, dentro del programa de mejora.

Por el contrario, el carácter *producción*, con un valor más bajo de repetibilidad, alto coeficiente de variación y elevado porcentaje de la varianza debido al año, no resulta un parámetro fiable en esta fase del programa (Tabla 23). Por lo tanto, su evaluación debe realizarse de forma más precisa durante las sucesivas fases (*preselecciones y selecciones avanzadas*), donde se dispone de varias repeticiones por genotipo. Sería

recomendable realizarla en diversas condiciones, empleando un diseño que permita determinar la componente genética de las diferencias encontradas. Evaluar la producción en las fases iniciales de un programa de mejora de olivo, presenta el inconveniente de consumir excesivos recursos, por lo que la mayoría de los programas lo llevan a cabo en fases posteriores (León *et al.*, 2007a).

En el caso de *textura de la pulpa* (Tabla 23), con un alto porcentaje de la varianza debido al residual, indica que existen muchos errores en su medición, por lo que sería necesario mejorar su forma de evaluación. Esto, unido a los valores intermedios en el coeficiente de variación y en repetibilidad, indica que no es un parámetro del que se pueda hacer una buena evaluación en esta fase.

Por otro lado, el *índice de madurez* (Tabla 23) aunque presentó un alto porcentaje de la varianza debido al genotipo, no resulta un parámetro fiable ya que se ha obtenido un alto coeficiente de variación y una repetibilidad más baja que el resto de caracteres.

En la fase de evaluación en la que nos encontramos (*progenies*), al disponer de un escaso número de individuos por cruzamiento, la heredabilidad tanto en sentido amplio como estricto no pueden ser estimadas. Otros autores (León *et al.*, 2004d), consideran que la repetibilidad resulta de gran utilidad en una primera estimación de la heredabilidad (en sentido amplio) para los caracteres evaluados. Por lo tanto, los resultados obtenidos para *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco* son de gran importancia para el programa puesto en marcha por la Universidad de Sevilla.

El coeficiente de repetibilidad también se ha estimado en diferentes cultivares de melocotón, para caracteres como peso del fruto y del hueso, longitud y anchura del fruto, firmeza de la pulpa, relación longitud-anchura y relación pulpa-hueso (Albuquerque *et al.*, 2004). La alta repetibilidad obtenida para todos los caracteres y años evaluados refleja la estabilidad de los diferentes cultivares, la precisión en la evaluación y el fuerte control genético de estos parámetros.

Recientemente, en frutales como la chirimoya DoVale (2011) concluyó que las estimaciones de la repetibilidad basadas en datos bianuales, para el carácter producción, son mayores que para años individuales. Además, cuatro bienios resultan suficientes para una selección efectiva en progenies de este frutal.

**Influencia de los años en los caracteres evaluados.-**

Se han encontrado diferencias significativas entre años para todos los parámetros evaluados excepto para el *índice de forma del hueso* (Tabla 24). En progenies de olivo para aceite, también se han observado diferencias significativas para otros parámetros de calidad, como la composición de ácidos grasos (León *et al.*, 2004c; León *et al.*, 2004e) y compuestos fenólicos en aceite (El Riachy *et al.*, 2012a).

Cabe destacar que el valor medio de la *producción* aumentó considerablemente en función del año, con valores superiores en 2008 (Tabla 24). Estos resultados fueron previsibles debido a la edad de la plantación. En progenies de olivo procedentes de cruzamientos entre variedades de aceite (León *et al.*, 2004d) y de doble aptitud (Ersoy *et al.*, 2008) también se ha observado un aumento gradual durante los años evaluados para el carácter producción.

Este incremento de *producción* observado, va acompañado con una disminución en el tamaño del fruto y, por tanto, en los parámetros relacionados con éste (*peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *longitud y anchura del fruto*, *longitud y anchura del hueso*) (Tabla 24). En otro estudio en progenies de olivo, para seleccionar variedades adecuadas a la recolección mecanizada, León *et al.* (2005a) también observaron esta relación inversa entre producción y peso del fruto. Asimismo, se observa una disminución en el rendimiento graso al aumentar la producción.

Los valores medios obtenidos para *peso del fruto*, *longitud del fruto*, *anchura del fruto* y *rendimiento graso*, tanto *en fresco* como *en seco*, fueron decreciendo con los años. Para el *índice de forma del fruto* y *humedad del fruto*, los valores medios fueron menores en el primer año (2006), manteniéndose constantes en los dos últimos (2007 y 2008) (Tabla 24). En cambio, Fontanazza *et al.* (1999) observaron que, para peso del fruto, peso de la pulpa, anchura del fruto y relación pulpa-hueso, los valores fueron ligeramente superiores en el segundo año de evaluación.

Por el contrario, para *relación pulpa-hueso*, *longitud y anchura del hueso* las medias fueron similares en los dos primeros años, decreciendo posteriormente en el año 2008 (Tabla 24). Esta misma tendencia fue observada por León *et al.* (2004d) para peso del fruto y relación pulpa-hueso.

**1.1.4.3.- Influencia de los cruzamientos en los parámetros evaluados.-**

Para todos los parámetros evaluados se han encontrado diferencias significativas entre los valores medios de los diferentes cruzamientos (Tablas 25, 26, 27 y 28). Estos

resultados ponen de manifiesto que la estrategia de realizar cruzamientos entre variedades de interés resulta útil para aumentar la probabilidad de encontrar genotipos que cumplan los objetivos marcados en un programa de mejora.

Otros autores han encontrado diferencias para caracteres de calidad como ácidos grasos (León *et al.*, 2004e) y fenoles individuales en aceite de oliva (El Riachy *et al.*, 2012b).

Destacan particularmente los genotipos pertenecientes a los cruzamientos M x G y G x St.CAT, con los mayores valores para los caracteres *peso del fruto* y *relación pulpa-hueso* (Tabla 25). En ambos cruzamientos, los genotipos presentaron frutos con un *peso* medio superior a 5,00 g y una *relación pulpa-hueso* superior a 6,00. Resultados superiores fueron publicados por Bellini *et al.* (2002b), para selecciones avanzadas procedentes de cruzamientos entre variedades de mesa y aceite. Sin embargo, en progenies de olivo Bellini (1992) encontró que, la mayoría de ellas presentaban valores medios inferiores a 3,00 g.

Estos cruzamientos presentan, además, valores altos para *longitud* y *anchura de fruto* (Tabla 26) y *del hueso* (Tabla 27), *índice de madurez* (Tabla 27) y *humedad de la pulpa* (Tabla 28). En cambio, para *textura del fruto* (Tabla 28), *índice de forma del fruto* (Tabla 26) y *del hueso* (Tabla 27) presentan valores bajos, indicando forma esférica y ovoidal, respectivamente, muy apreciadas por la industria de la aceituna de mesa.

En la descendencia del cruzamiento A x M se encuentran los genotipos con menor *peso del fruto* y baja *relación pulpa-hueso* (Tabla 25). También presentan los menores valores para *longitud* y *anchura de fruto* (Tabla 26) y *del hueso* (Tabla 27), *índice de madurez* (Tabla 27) y *rendimiento*, tanto *en fresco* como *en seco* (Tabla 28).

Para los cruzamientos recíprocos de A x M y M x A, no se han obtenido diferencias significativas para los parámetros *peso del fruto*, *longitud*, *anchura* e *índice de forma del fruto*, *anchura* e *índice de forma del hueso*, *índice de madurez*, *textura* y *rendimiento graso sobre peso fresco* (Tablas 29 y 30). Parece, por tanto, que ‘Manzanilla’ y ‘Arbequina’ influyen, al menos para estos parámetros, de la misma forma en la progenie cuando se utilizan como progenitor masculino que como femenino. Sin embargo, para *producción*, *relación pulpa-hueso*, *longitud del hueso* (Tabla 29), *rendimiento sobre peso seco* y *humedad del fruto* (Tabla 30) si ha habido diferencias. Excepto para la *longitud del hueso* (Tabla 29), la progenie de A x M presentó valores inferiores que los genotipos procedentes de M x A. Ersoy *et al.* (2008), en un cruzamiento entre variedades de doble aptitud, obtuvieron individuos con valores superiores para producción acumulada y porcentaje de pulpa. En cambio, para el

cruzamiento recíproco, los mayores valores fueron para peso del fruto y contenido en aceite.

Para estos cruzamientos, y a nivel de años, se han encontrado diferencias significativas para todos los caracteres evaluados, excepto para *índice de forma del fruto* (Tabla 29), *índice de forma del hueso*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *humedad del fruto* (Tabla 30). Para *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *longitud del fruto*, *anchura del fruto*, *longitud del hueso*, *anchura del hueso* y *rendimiento graso sobre peso seco* (Tablas 29 y 30), se alcanzaron mayores valores en el año 2007. En cambio, los valores medios alcanzados en 2008 fueron superiores para *producción*, *índice de madurez* y *textura de la pulpa* (Tablas 29 y 30).

#### **1.1.4.4.- Influencia de los progenitores en los parámetros evaluados.-**

Al analizar la influencia del progenitor femenino en las diferentes progenies, se han encontrado diferencias significativas para todos los caracteres analizados, excepto para *índice de forma del hueso*, *índice de madurez*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco* (Tablas 33 y 34). En progenies procedentes de seis cultivares, dos de ellos de mesa, Lavee y Avidan, (2012) han demostrado recientemente la influencia del progenitor femenino para peso del fruto, contenido en aceite, forma del fruto y del árbol.

Entre los diferentes padres, tan sólo el carácter *humedad del fruto* no presentó diferencias significativas entre los parentales masculinos (Tabla 38).

‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Arbequina, como progenitores masculinos, no han presentado diferencias significativas en sus progenies para ninguno de los caracteres estudiados, excepto *rendimiento graso sobre peso seco* (Tabla 38). Para los caracteres *peso del fruto* (Tabla 35), *relación pulpa-hueso* (Tabla 35), *longitud* y *anchura del fruto* (Tabla 36) y *longitud* y *anchura del hueso* (Tabla 37) han presentado también, los valores más bajos en comparación con el resto de progenitores. En cambio, como progenitores femeninos, han obtenido mayores valores para *producción* (Tabla 31). Otros autores también han observado diferencias, según el progenitor femenino, para producción y contenido en aceite sobre peso seco (León y Rallo, 2002). Las descendencias de ‘Picual’ fueron más productivas que las de ‘Arbequina’ o ‘Frantoio’. Por el contrario, a partir del segundo año de producción, ‘Frantoio’ obtuvo un mayor contenido en aceite respecto a ‘Arbequina’ y ‘Picual’.



‘Arbequina’ se encuentra entre las madres con menores valores medios para todos los parámetros, excepto para *producción* (Tabla 31), *textura de la pulpa* (Tabla 34) y *humedad del fruto* (Tabla 34). Además, utilizada como padre, se caracteriza por su bajo *peso de fruto* (Tabla 31) y *relación pulpa-hueso* (Tabla 35). Estos resultados fueron previsibles, ya que son característicos de una variedad con fruto muy pequeño cuya producción se destina generalmente a la elaboración de aceite. Aunque estos resultados podrían motivar su exclusión como progenitor en un programa de mejora de aceituna de mesa, sus características de bajo vigor, elevada productividad, escasa vecería, buen rendimiento graso y rápida entrada en producción (Barranco, 2008), son aspectos deseables en variedades de mesa y justifican su utilización en el programa de la Universidad de Sevilla.

Para ‘Gordal Sevillana’ se han obtenido mayores valores para todos los caracteres, tanto como progenitor femenino como masculino, aunque en este último caso no tan claramente. Las excepciones son *índice de forma del fruto* (Tabla 32) y *textura de la pulpa* (Tabla 34) y, además, *producción* (Tabla 35) e *índice de forma del hueso* (Tabla 37) si se emplea como progenitor masculino. Para *peso del fruto* y *anchura del fruto*, las progenies de ‘Gordal Sevillana’ han alcanzado valores superiores y estadísticamente diferentes que el resto de los progenitores femeninos (Tablas 31 y 32, respectivamente) o masculinos (Tablas 35 y 36, respectivamente). Además, para los parámetros relacionados con la forma (*longitud* y *anchura*) del fruto (Tabla 32) y del hueso (Tabla 33), podemos observar en las progenies obtenidas para los diferentes progenitores femeninos, que ‘Gordal Sevillana’ presenta los valores más altos para todos los parámetros mencionados y ‘Arbequina’ los más pequeños.

En general podemos decir que, para la mayoría de los caracteres evaluados existe una gran influencia de los progenitores en la descendencia, y, en el caso del progenitor masculino hay diferencias significativas, entre padres, para más caracteres de la proge. Por tanto, la elección de parentales en la planificación de cualquier cruzamiento es importante dentro de un programa de mejora.

En aceituna de mesa no existen hasta la fecha ningún trabajo tan amplio sobre la influencia de los progenitores para caracteres del fruto. Por este motivo, los resultados de este trabajo resultan de interés para futuros programas, ya que su eficiencia dependerá en gran parte, de la selección de progenitores. Sin embargo, en otros programas de olivo existen otros estudios sobre la influencia de los progenitores en el vigor de los árboles (Bellini, 1992) y duración del periodo juvenil (León *et al.*, 2007a;



León y Rallo, 2002; Moral *et al.*, 2010; Santos-Antunes *et al.*, 2005; Santos-Antunes *et al.*, 1999).

## CAPÍTULO 1

### 1.2.- Simplificación del proceso de evaluación



## ÍNDICE

---

<b>1.2.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.- .....</b>	<b>115</b>
<b>1.2.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.- .....</b>	<b>117</b>
1.2.2.1.- Material vegetal y toma de datos.- .....	117
1.2.2.2.- Análisis estadístico.-.....	117
<b>1.2.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.- .....</b>	<b>117</b>
1.2.3.1.- Selección indirecta.-.....	117
1.2.3.2.- Tiempo mínimo de selección.-.....	123

## ÍNDICE DE TABLAS

---

**Tabla 39.-** Correlaciones de Pearson (**r**) encontradas entre los diferentes parámetros evaluados para todos los genotipos estudiados: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**), humedad del fruto (%) (**HUM**) y textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**). Para aquellas correlaciones más significativas se indica en color rosa los valores comprendidos entre 0,40 y 0,50, en naranja los valores comprendidos entre 0,50 y 0,70 y en verde los valores superiores a 0,70. Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). *ns*: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ ..... 119

**Tabla 40.-** Principales correlaciones de Pearson (**r**) encontradas entre primera-segunda cosecha, primera-tercera cosecha, segunda-tercera cosecha, para los diferentes parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**), humedad del fruto (%) (**HUM**) y textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**). Para este análisis se ha considerado la primera, segunda y tercera cosecha de cada genotipo estudiado. *ns*: no significativo, \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ ..... 124

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 28.-** Gráficos de dispersión obtenidos con los valores normalizados de primera (1ª C) y segunda cosecha (2ª C) para los parámetros producción (**a**), peso del fruto (**b**), relación pulpa-hueso (**c**) y rendimiento graso sobre peso seco (**d**). Se indica además, los coeficientes de correlación de Pearson (**r**) y el porcentaje de genotipos en cada cuadrante (primero (I), segundo (II), tercero (III) y cuarto (IV)). ..... 127

**Figura 29.-** Gráficos de dispersión obtenidos con los valores normalizados de primera (1ª C) y tercera cosecha (3ª C) para los parámetros producción (**a**), peso del fruto (**b**), relación pulpa-hueso (**c**) y rendimiento graso sobre peso seco (**d**). Se indica además, los coeficientes de correlación de Pearson (**r**) y el porcentaje de genotipos en cada cuadrante (primero (I), segundo (II), tercero (III) y cuarto (IV)). En color rosa se indican los porcentajes y los genotipos con valores normalizados positivos (■) y negativos (▲) para las tres cosechas. .... 128

### 1.2.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-

En los últimos años, los avances de la investigación en olivo han facilitado el inicio de nuevos programas de mejora en los principales países olivareros. La mayoría se basan en cruzamientos intraespecíficos entre cultivares sobresalientes y la selección de su progenie (León *et al.*, 2008). La evaluación de esos genotipos puede ser limitante por el elevado coste de tiempo y dinero que implica la crianza y mantenimiento en campo de un gran número de árboles (Rallo, 1994a), así como la propia evaluación de los parámetros agronómicos más interesantes, generalmente asociados a la fructificación. Por este motivo, sería necesario disponer de métodos que permitan una evaluación rápida y económica para descartar cuanto antes aquellos individuos con escaso valor agronómico.

En los actuales programas de mejora de olivo se están buscando procedimientos que faciliten la evaluación de las progenies obtenidas (Rallo *et al.*, 2011b). Entre otros se encuentran la *selección precoz*, la determinación del *tiempo mínimo* para la evaluación de diferentes caracteres y la *simplificación en los métodos de evaluación*. Así, se han alcanzado avances metodológicos en el acortamiento y conocimiento del periodo juvenil (De la Rosa *et al.*, 2006; Rallo *et al.*, 2008b; Moreno-Alías *et al.*, 2010b; Santos-Antunes *et al.*, 2005; Suárez *et al.*, 2011) o en el establecimiento de criterios de *selección precoz* asociados a la arquitectura de la planta (Hammami *et al.*, 2011). En todos ellos se pretende mejorar la eficiencia del programa, mediante la optimización de estrategias de evaluación y selección de progenies. De esta manera, en las primeras etapas de la selección se produce una importante reducción de individuos, lo que supone un ahorro de tiempo y recursos.

En programas de mejora de frutales, se requiere un buen conocimiento de los caracteres agronómicos a mejorar. Para los parámetros evaluados, la selección debe realizarse en base a las correlaciones entre los diferentes caracteres analizados, siendo éstas esenciales para simplificar los procesos de evaluación. Para aquellos caracteres que estén altamente correlacionados entre sí, se podría realizar una *selección indirecta* en función de uno de ellos, reduciendo así el número de parámetros a evaluar (Hansche *et al.*, 1972).

Para aceituna de mesa apenas existen trabajos sobre correlaciones entre caracteres de interés. En cambio, dentro de programas de mejora de olivo para aceite, existen estudios de correlación para caracteres de calidad: peso del fruto, humedad de la pulpa, relación pulpa-hueso, composición en ácidos grasos, contenido en aceite (León *et al.*, 2004b),

diámetro longitudinal y transversal del fruto y del hueso (Fontanazza *et al.*, 1999) y composición fenólica del aceite (El Riachy *et al.*, 2012a; El Riachy *et al.*, 2012b; El Riachy *et al.*, 2012c). Asimismo, las correlaciones entre materia grasa, azúcares reductores y humedad en aceituna fresca han sido estudiadas para diferentes cultivares, tanto de mesa como de aceite (Sánchez-Gómez y Fernández-Díez, 1991). Recientemente, también se han llevado a cabo estudios de correlaciones para características morfológicas del fruto en ejemplares de olivo silvestre, situados en diferentes localidades (Belaj *et al.*, 2011).

En otras especies como melocotón (Albuquerque *et al.*, 2004; Cantín *et al.*, 2010; De Souza y Byrne, 1998), uva de mesa (Firoozabady y Olmo, 1987) y uva para vinificación (Bayo-Canha *et al.*, 2012) también existen estudios de correlación entre parámetros cualitativos y cuantitativos del fruto.

Por otra parte la consistencia de los datos en diferentes años permite seleccionar, en el menor tiempo posible, los individuos más interesantes. Las correlaciones en años sucesivos para características del fruto (León *et al.*, 2004d) o la composición en ácidos grasos (León *et al.*, 2004c) en progenies procedentes de cruzamientos, pueden indicar el tiempo mínimo necesario para evaluar estos caracteres. Así, observaciones de un sólo año para parámetros como peso del fruto, relación pulpa-hueso (De la Rosa *et al.*, 2008) o composición de ácidos grasos (León *et al.*, 2008), pueden ser una base sólida para una selección precoz.

En este capítulo, se pretende simplificar el protocolo de evaluación de progenies del programa de mejora de aceituna de mesa de la Universidad de Sevilla. Se van a analizar fundamentalmente parámetros del fruto de interés para la producción de aceituna de mesa de calidad que puedan utilizarse como criterios de selección de los genotipos más sobresalientes. El objetivo general es establecer un protocolo sencillo y rápido de evaluación de progenies, seleccionando un número mínimo de parámetros que sean consistentes entre años. También deben ser fácilmente medibles y correlacionados con otros caracteres de interés (*selección indirecta*), así como determinar el número mínimo de campañas a evaluar dichos parámetros (*tiempo mínimo de selección*).

Los objetivos concretos de este capítulo han sido:

- 1.- Estudiar las posibles correlaciones entre los 14 parámetros evaluados en cada progenie, considerando el conjunto de la población durante cuatro años. El conocimiento de estas relaciones permitirá hacer *selección indirecta* a través de

parámetros correlacionados entre sí, y por tanto reducir el número de caracteres a evaluar en cada genotipo.

2.- Determinar el *tiempo mínimo de selección*. Se analizan para cada parámetro y genotipo la consistencia de los datos en las sucesivas cosechas, con el fin de elegir aquellos parámetros que permitan seleccionar los genotipos más sobresalientes en el menor tiempo posible.

### **1.2.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-**

#### **1.2.2.1.- Material vegetal y toma de datos.-**

Tanto el material vegetal empleado como la toma de datos realizada en este capítulo, son los mismos que se han descrito en el capítulo 1.1. de la presente Tesis (*Evaluación de la variabilidad e influencia de los progenitores*).

#### **1.2.2.2.- Análisis estadístico.-**

Una vez recopilados todos los datos, se realizaron los análisis estadísticos con el programa informático **StatGraphics Plus V. 5. 1**.

Se han determinado los coeficientes de correlación de Pearson (**r**) entre todos los parámetros estudiados y para los cuatro años evaluados (2006, 2007, 2008 y 2009) (**Diseño no equilibrado**). En el año 2009, no se recogieron datos del parámetro producción.

Para determinar el *tiempo mínimo de selección* de cada parámetro (número mínimo de años necesarios para su correcta evaluación), se han calculado los coeficientes de correlación entre los valores obtenidos en las diferentes cosechas (primera-segunda, primera-tercera y segunda-tercera). Para un determinado genotipo, se consideró primera cosecha al año (2006, 2007, 2008 ó 2009) en que se obtuvo por primera vez datos para un determinado parámetro. Para ese mismo genotipo, la segunda cosecha fue establecida en el segundo año con datos para ese parámetro, y así sucesivamente.

Con los valores normalizados se han realizado gráficos de dispersión para algunos parámetros de calidad evaluados (producción, peso del fruto, relación-pulpa-hueso y rendimiento graso sobre peso seco) entre los años 2006-2007 y 2006-2008 (**Diseño no equilibrado**).

### **1.2.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.-**

#### **1.2.3.1.- Selección indirecta.-**

En la tabla 39 se muestran las principales correlaciones de Pearson (**r**) entre los 14 parámetros estudiados, para todos los genotipos y años evaluados. Para el cálculo de estas



correlaciones se ha considerado el conjunto de datos de todos los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (**Diseño no equilibrado**).

Se puede observar una alta variabilidad, con coeficientes que oscilan entre -0,57 a 0,94 y con diferentes grados de significación. Se han obtenido coeficientes de correlación superiores a 0,70 y con un grado de significación de  $P \leq 0,001$  para:

- Rendimiento graso sobre peso fresco y rendimiento graso sobre peso seco (0,94)
- Peso del fruto y anchura del fruto (0,93)
- Índice de forma del fruto e índice de forma del hueso (0,89)
- Peso del fruto y longitud del fruto (0,86)
- Longitud del fruto y anchura del fruto (0,84)
- Longitud del fruto y longitud del hueso (0,84)
- Anchura del fruto y anchura del hueso (0,78)
- Peso del fruto y anchura del hueso (0,75)

Las correlaciones encontradas, con un grado de significación alto ( $P \leq 0,001$ ) y valores comprendidos entre 0,50 y 0,70 han sido:

- Longitud del fruto y anchura del hueso (0,66)
- Peso del fruto y relación pulpa-hueso (0,63)
- Relación pulpa-hueso y anchura del fruto (0,62)
- Peso del fruto y longitud del hueso (0,60)
- Longitud del hueso y anchura del hueso (0,58)
- Longitud del hueso e índice de forma del hueso (0,56)
- Índice de forma del fruto y longitud del hueso (0,52)
- Anchura del fruto y longitud del hueso (0,50)

Por otro lado, se han encontrado correlaciones inferiores a las anteriormente citadas, para el parámetro relación pulpa-hueso con otros caracteres. Los valores están comprendidos entre 0,40 y 0,50, con un alto grado de significación ( $P \leq 0,001$ ):

- Relación pulpa-hueso y longitud del fruto (0,45)
- Relación pulpa-hueso y humedad del fruto (0,42)
- Relación pulpa-hueso y rendimiento graso sobre peso seco (0,40)

**Tabla 39.-** Correlaciones de Pearson (**r**) encontradas entre los diferentes parámetros evaluados para todos los genotipos estudiados: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**), humedad del fruto (%) (**HUM**) y textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**). Para aquellas correlaciones más significativas se indica en color rosa los valores comprendidos entre 0,40 y 0,50, en naranja los valores comprendidos entre 0,50 y 0,70 y en verde los valores superiores a 0,70. Para este análisis se ha considerado el conjunto de datos de los años (2006, 2007, 2008 y 2009) (*Diseño no equilibrado*). ns: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ .

	PROD	PF	P/H	LF	AF	IFF	LH	AH	IFH	IM	RTO F	RTO S	HUM	TEX
<b>PROD</b>														
<b>PF</b>	-0,34 ***													
<b>P/H</b>	-0,24 ***	0,63 ***												
<b>LF</b>	-0,37 ***	0,86 ***	0,45 ***											
<b>AF</b>	-0,38 ***	0,93 ***	0,62 ***	0,84 ***										
<b>IFF</b>	0,08 n.s.	-0,18 ***	-0,35 ***	0,20 ***	-0,35 ***									
<b>LH</b>	-0,27 ***	0,60 ***	0,07 n.s.	0,84 ***	0,50 ***	0,52 ***								
<b>AH</b>	-0,28 ***	0,75 ***	0,21 ***	0,66 ***	0,78 ***	-0,27 ***	0,58 ***							
<b>IFH</b>	-0,01 n.s.	-0,07 n.s.	-0,13 ***	0,28 ***	-0,23 ***	0,89 ***	0,56 ***	-0,34 ***						
<b>IM</b>	-0,18 ***	0,04 n.s.	0,31 ***	-0,10 *	0,05 n.s.	-0,25 ***	-0,27 ***	-0,15 ***	-0,16 ***					
<b>RTO F</b>	-0,25 ***	0,13 **	0,22 ***	0,11 *	0,18 ***	-0,12 **	-0,07 n.s.	-0,04 n.s.	-0,04 n.s.	0,16 ***				
<b>RTOS</b>	-0,26 ***	0,21 ***	0,40 ***	0,15 ***	0,27 ***	-0,21 ***	-0,13 **	-0,06 n.s.	-0,08 n.s.	0,24 ***	0,94 ***			
<b>HUM</b>	0,12 *	0,20 ***	0,42 ***	0,07 n.s.	0,19 ***	-0,22 ***	-0,12 *	-0,01 n.s.	-0,12 **	0,15 **	-0,57 ***	-0,28 ***		
<b>TEX</b>	0,04 n.s.	-0,33 ***	-0,37 ***	-0,29 ***	-0,29 ***	-0,01 n.s.	-0,15 ***	-0,10 *	-0,08 n.s.	-0,02 n.s.	-0,03 n.s.	-0,13 **	-0,25 ***	

En líneas generales, se han obtenido correlaciones interesantes para algunos de los parámetros evaluados (Tabla 39). Según los datos obtenidos en este trabajo, existe una correlación positiva entre la *relación pulpa-hueso* y los parámetros *anchura* (0,62) y *longitud del fruto* (0,45). También se ha encontrado una correlación negativa entre la *humedad del fruto* y el *rendimiento graso*, tanto *en fresco* (-0,57) como *en seco* (-0,28), respectivamente. Correlaciones similares han sido previamente citadas por Rallo y Cuevas (2008) para la relación pulpa-hueso con el tamaño del fruto y por Fernández-Díez *et al.* (1985) para el contenido en aceite, que es inversamente proporcional a la humedad de la pulpa.

Asimismo, se han observado bajas correlaciones entre *índice de madurez* y diferentes parámetros: *rendimiento graso en fresco* (0,16), *rendimiento graso en seco* (0,24), *relación pulpa-hueso* (0,31) y *humedad del fruto* (0,15) (Tabla 39). Otros autores como León *et al.* (2004b) encontraron, en progenies de olivo, una ligera correlación entre fecha de maduración y contenido en aceite.

Es interesante resaltar que, el *peso del fruto* se encuentra correlacionado de manera muy significativa ( $P \leq 0,001$ ) con un gran número de caracteres: *anchura del fruto* (0,93), *longitud del fruto* (0,86), *anchura del hueso* (0,75), *longitud del hueso* (0,60) y *relación pulpa-hueso* (0,63). Estos resultados permiten plantear la *selección indirecta* de parámetros morfológicos de fruto y hueso (*longitud*, *anchura* y *relación pulpa-hueso*) a través de la evaluación del peso del fruto. Asimismo, el *peso del fruto* se encuentra correlacionado negativamente con la *producción* (-0,34). Dicha correlación, ya citada por Rallo y Cuevas (2008), puede estar relacionada incluso, según estos autores, con la disponibilidad hídrica durante el crecimiento.

Por otro lado, el *índice de forma del fruto*, se correlaciona con el *índice de forma del hueso* (0,89) y la *longitud del hueso* (0,52), lo que permitiría prescindir del deshuesado y de la evaluación de parámetros relacionados con el mismo. Estos caracteres, como *anchura*, *longitud* o *índice de forma del hueso* son tediosos de medir, por lo que sería conveniente seleccionarlos indirectamente a través del *índice de forma del fruto*. No obstante este último parámetro se calcula como la relación entre anchura y longitud de fruto. Dado que dichas medidas consumen mucho tiempo (100 datos por genotipo) y están altamente correlacionadas con el peso (0,93 y 0,86), habría que plantearse si realmente merecen la pena en esta fase de evaluación de progenies o si se pueden estimar a través del peso del fruto.

En estudios llevados a cabo en variedades de mesa (Fanizza, 1982) y en progenies obtenidas por cruzamiento entre una variedad de aceite y una de doble aptitud (Fontanazza *et al.*, 1999), se obtuvieron resultados similares. En ambos trabajos, las correlaciones obtenidas entre el peso del fruto y las medidas de longitud y anchura del fruto y del hueso fueron de magnitud similar a las obtenidas en este estudio aunque inferiores en algunos casos, en grado de significación.

Además, se han encontrado correlaciones muy significativas ( $P \leq 0,001$ ) entre las medidas de fruto y hueso: *longitud de fruto* con *anchura de hueso* (0,66), *anchura del fruto* con *longitud del hueso* (0,84), *longitud de fruto* con *longitud de hueso* (0,84), *anchura del fruto* con *anchura del hueso* (0,78) (Tabla 39). Estos mismos autores (Fanizza, 1982; Fontanazza *et al.*, 1999) al igual que en nuestro caso, obtuvieron altas correlaciones entre estos caracteres, pero también con valores inferiores.

En otros frutales como melocotón se han obtenido altos coeficientes de correlación entre parámetros morfológicos del fruto (Albuquerque *et al.*, 2004). La alta correlación entre peso y diámetro del fruto permite una *selección indirecta* basándose en este último, evitando la selección sólo por peso del fruto, que podría conducir a caracteres no deseables como alta longitud del fruto y elevada relación longitud-diámetro. No obstante De Souza y Byrne (1998) encontraron que el peso del fruto es una medida fiable del tamaño del mismo. Al ofrecer este parámetro mayor variabilidad y simplicidad de medición, consideraron que la selección por peso del fruto sería más eficiente para aumentar su tamaño.

Al igual que en este estudio, Belaj *et al.* (2011) han encontrado recientemente en acebuche correlaciones entre las dimensiones (longitud y anchura) del fruto y las del hueso y de éstas con el peso del fruto. Sin embargo, nosotros no hemos encontrado una correlación tan alta entre las dimensiones del fruto y el contenido de aceite, como la señalada por dichos autores.

En el presente trabajo, el *peso del fruto* también está correlacionado negativamente con la *producción* (Tabla 39). Esta correlación negativa ha sido previamente publicada por León *et al.* (2004b) para progenies de olivo, aunque con valores inferiores a los obtenidos en nuestro estudio, en dos de los cuatro años evaluados.

En progenies de melocotón, sin embargo, Cantín *et al.* (2010) obtuvieron correlaciones positivas entre peso del fruto y producción. Estos resultados sugieren que el peso del fruto se incrementa con la producción, hasta un punto, a partir del cual los recursos del árbol no pueden contribuir a incrementar ambos caracteres simultáneamente. Además

de la producción, el peso del fruto se encontró correlacionado con el índice de madurez y la firmeza.

Una correlación similar a la obtenida en este trabajo entre *peso del fruto* y *relación pulpa-hueso* (0,63), ha sido puesta de manifiesto por otros autores en colecciones de cultivares de olivo (Del Río y Caballero, 2008), poblaciones segregantes de cruzamientos entre ‘Leccino’ x ‘Kalamata’ (Fontanazza *et al.*, 1999) y entre ‘Arbequina’, ‘Frantoio’ y ‘Picual’ (León *et al.*, 2004b). En este último artículo, ambos caracteres también se correlacionaron ligeramente con la humedad de la pulpa, para dos de los cuatro años evaluados. En nuestro caso, el peso del fruto y la relación pulpa-hueso también se correlacionaron ligeramente con la humedad del fruto (0,20 y 0,42, respectivamente).

Otros autores han observado en progenies de olivo una baja correlación significativa entre peso del fruto y fuerza de retención, que resultó constante a lo largo de los años evaluados (León *et al.*, 2005a). Este resultado indica la posibilidad de seleccionar genotipos aptos para la recolección mecanizada, con baja fuerza de retención y peso del fruto relativamente alto.

Como se puede observar en la tabla 39, la *textura de la pulpa* se correlaciona de forma negativa con la mayoría de los parámetros: *peso del fruto* (-0,33), *relación pulpa-hueso* (-0,37), *longitud del fruto* (-0,29), *anchura del fruto* (-0,29), *longitud del hueso* (-0,15), *anchura del hueso* (-0,10), *rendimiento graso sobre peso seco* (-0,13) y *humedad del fruto* (-0,25). Aunque los valores que presentan son bajos (menores a 0,5), existe una alta significación para todos ellos ( $P \leq 0,001$ ), excepto para anchura del hueso que ha sido algo menor ( $P \leq 0,05$ ). Por lo tanto, para este carácter no sería conveniente realizar una *selección indirecta* a través de otros parámetros, siendo necesario evaluarlo de forma directa. Los resultados obtenidos en el capítulo 1.1 (Tabla 23) muestran además, que para este parámetro un alto porcentaje de la varianza fue debida al residual. Esto indica la existencia de muchos errores en su medición, por lo que es preciso mejorar su forma de evaluación. Si tenemos en cuenta también, los valores medios alcanzados por este carácter para la repetibilidad (Tabla 23, capítulo 1.1), podemos concluir que no es un parámetro del que se pueda hacer una buena evaluación en esta fase. Sin embargo, en fases posteriores del programa de mejora (*preselecciones* o *selecciones avanzadas*), podríamos tenerlo en cuenta, siempre y cuando se optimice su forma de evaluación.

En resumen, basándonos en los resultados obtenidos, se podría realizar la selección inicial de individuos en el programa de mejora de aceituna de mesa mediante un

reducido número de caracteres (*peso del fruto* y *rendimiento graso sobre peso seco*), en lugar de los 14 parámetros medidos hasta el momento. La selección por *peso*, parámetro fácilmente medible, llevaría asociada la *selección indirecta* de otros parámetros interesantes (*anchura* y *longitud de fruto* y *hueso*, *relación pulpa-hueso*). Se evitaría así la multiplicación de medidas que implican los parámetros de *anchura* y *longitud* así como la engorrosa operación del deshuesado para la evaluación de los parámetros de *hueso* y de la *relación pulpa-hueso*. No obstante, para este último parámetro (*relación pulpa-hueso*), aunque está ligeramente correlacionado con el *peso del fruto* (0,63), habría que valorar si una mayor precisión en el dato compensa el coste de su evaluación, ya que se trata de un carácter especialmente interesante en aceituna de mesa.

La gran cantidad de cruzamientos analizados y el elevado número de años considerados en este estudio, avalan la consistencia de estos resultados. La reducción del número de parámetros a analizar a 3-4 en la fase de evaluación de progenies implicaría una mejora clara en la eficiencia del programa de la Universidad de Sevilla, pudiendo ampliar la evaluación a un mayor número de individuos. En este sentido, en los programas de mejora para aceite se han estudiado las correlaciones para peso del fruto y contenido en aceite, ya que resultan menos laboriosos de evaluar que otros componentes de la producción de aceite (León *et al.*, 2004b).

#### 1.2.3.2.- Tiempo mínimo de selección.-

En programas de mejora de olivo, la evaluación de progenies es bastante compleja debido a que algunos caracteres tardan en estabilizarse dos o tres años (Lavee, 1990).

Para determinar el tiempo mínimo de selección, se han calculado los coeficientes de correlación de Pearson (*r*) para las diferentes cosechas y parámetros analizados (Tabla 40). Mediante estas correlaciones, y para un determinado carácter, se puede establecer el número mínimo de años necesarios para su correcta evaluación. Para el cálculo de estas correlaciones se ha considerado la primera, segunda y tercera cosecha de cada genotipo estudiado.

Para la mayoría de los parámetros se han obtenido coeficientes de correlación suficientemente altos entre los valores de las diversas cosechas. Para *peso del fruto*, *anchura del fruto*, *índice de forma del fruto*, *humedad del fruto*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco* (marcados en verde), los coeficientes de correlación han sido superiores a 0,70, en todos los casos. Además, para todos ellos, los valores de las correlaciones calculadas entre las distintas cosechas, se mantienen estables.

**Tabla 40.-** Principales correlaciones de Pearson ( $r$ ) encontradas entre primera-segunda cosecha, primera-tercera cosecha, segunda-tercera cosecha, para los diferentes parámetros: producción (g/genotipo) (**PROD**), peso del fruto (g) (**PF**), relación pulpa-hueso (**P/H**), longitud del fruto (mm) (**LF**), anchura del fruto (mm) (**AF**), índice de forma del fruto (**IFF**), longitud del hueso (mm) (**LH**), anchura del hueso (mm) (**AH**), índice de forma del hueso (**IFH**), índice de madurez (**IM**), rendimiento graso sobre peso fresco (%) (**RTO F**), rendimiento graso sobre peso seco (%) (**RTO S**), humedad del fruto (%) (**HUM**) y textura de la pulpa (KN/100g) (**TEX**). Para este análisis se ha considerado la primera, segunda y tercera cosecha de cada genotipo estudiado. *ns*: no significativo, \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ .

Parámetros	1ª y 2ª Cosecha	1ª y 3ª Cosecha	2ª y 3ª Cosecha
<b>PROD</b>	0,44***	0,39***	0,70***
<b>PF</b>	0,77***	0,80***	0,76***
<b>P/H</b>	0,70***	0,58***	0,62***
<b>LF</b>	0,75***	0,64***	0,62***
<b>AF</b>	0,77***	0,73***	0,77***
<b>IFF</b>	0,88***	0,77***	0,81***
<b>LH</b>	0,73***	0,69***	0,65***
<b>AH</b>	0,69***	0,54***	0,60***
<b>IFH</b>	0,90***	0,68***	0,74***
<b>IM</b>	0,30***	0,50***	0,09 ns
<b>RTO F</b>	0,86***	0,83***	0,82***
<b>RTO S</b>	0,83***	0,77***	0,77***
<b>HUM</b>	0,76***	0,72***	0,78***
<b>TEX</b>	0,35***	0,58***	0,43***

La significación encontrada para la correlación entre cosechas para todos los caracteres ha sido muy alta ( $P \leq 0,001$ ), excepto para el *índice de madurez*, donde la correlación entre 2ª-3ª cosecha ha resultado no significativa (Tabla 40). Resultados similares fueron publicados por (León *et al.* (2004d) para caracteres como peso del fruto, porcentaje de humedad de la pulpa, fecha de madurez y contenido en aceite, aunque con una menor significación que en nuestro trabajo.

La alta correlación y consistencia obtenida para *peso del fruto*, *anchura del fruto*, *índice de forma del fruto*, *humedad del fruto*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco*, resultan *a priori* muy interesantes para el programa de mejora de la Universidad de Sevilla. Esto indica que se podría empezar a seleccionar o descartar genotipos con sólo el primer año de evaluación. De esta forma, se puede evitar el alto coste que supone realizar estas determinaciones durante varios años así como reducir el número de años que están las progenies en campo. Por lo tanto, estos caracteres pueden ser considerados como indicadores eficaces para una selección temprana.

Estos resultados junto con la alta repetibilidad obtenida para *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco* (ver Tabla 23 del

capítulo 1.1 de esta Tesis) confirman que los valores obtenidos en el primer año son una base sólida para sucesivos años. La repetibilidad puede expresarse como la correlación entre las medias evaluadas en un mismo individuo, repetido en tiempo y en espacio (Alburquerque *et al.*, 2004).

En progenies de olivo, también León *et al.* (2004d) obtuvieron altas correlaciones entre años para el parámetro contenido en aceite. Por ello, sólo un año de evaluación sería suficiente para conocer el comportamiento en posteriores campañas. De la Rosa *et al.* (2008) asimismo encontraron correlaciones altamente significativas entre años para peso del fruto, relación fuerza de retención/peso del fruto y contenido en aceite (particularmente sobre peso seco). Las observaciones de un sólo año pueden proporcionar bases sólidas para una selección eficaz de individuos jóvenes. Las correlaciones fueron calculadas entre las medidas obtenidas inicialmente por la progenie y las correspondientes para las selecciones establecidas en campo.

Correlaciones medias ( $0,60 < r < 0,70$ ) se obtuvieron para otros caracteres estudiados como *relación pulpa-hueso*, *longitud del fruto*, *longitud y anchura del hueso* (en color naranja), donde los coeficientes de correlación oscilaron entre las tres cosechas, superando en la mayoría de los casos un valor de 0,60. Asimismo, el *índice de forma del hueso* superó el valor de 0,70, excepto para primera y tercera cosecha (0,68) (Tabla 40). Por este motivo, sería conveniente incrementar el número de años de evaluación para todos estos caracteres.

De forma similar, para peso del fruto y relación pulpa-hueso, con correlaciones altas y bajas en los periodos considerados, León *et al.* (2004d) afirmaron que serían necesarios dos años de estudio.

Por otro lado, para *producción*, *índice de madurez* y *textura de la pulpa* (señalados en rosa), las correlaciones (1ª-2ª cosecha, 1ª-3ª cosecha y 2ª-3ª cosecha) fueron menores de 0,60, excepto para el parámetro producción en 2ª-3ª cosecha (0,70) (Tabla 40). Para estos caracteres, con bajos coeficientes de correlación, también sería necesario aumentar el periodo de evaluación, y, probablemente el número de individuos (no sólo uno como en el presente trabajo). Por tanto, serían parámetros a evaluar en posteriores fases del programa de mejora (*preselecciones* o *selecciones avanzadas*), cuando se cuente con un número mayor de repeticiones por genotipo. Estos resultados confirman los comentados anteriormente para el parámetro *textura de la pulpa* (bajas correlaciones con los demás caracteres evaluados), siendo necesario optimizar su evaluación en fases más avanzadas del programa. Igualmente León *et al.* (2004d), al obtener para el parámetro producción



coeficientes de correlación muy inferiores al resto de parámetros estudiados, indicaron que sería imprescindible dos o más años de estimación.

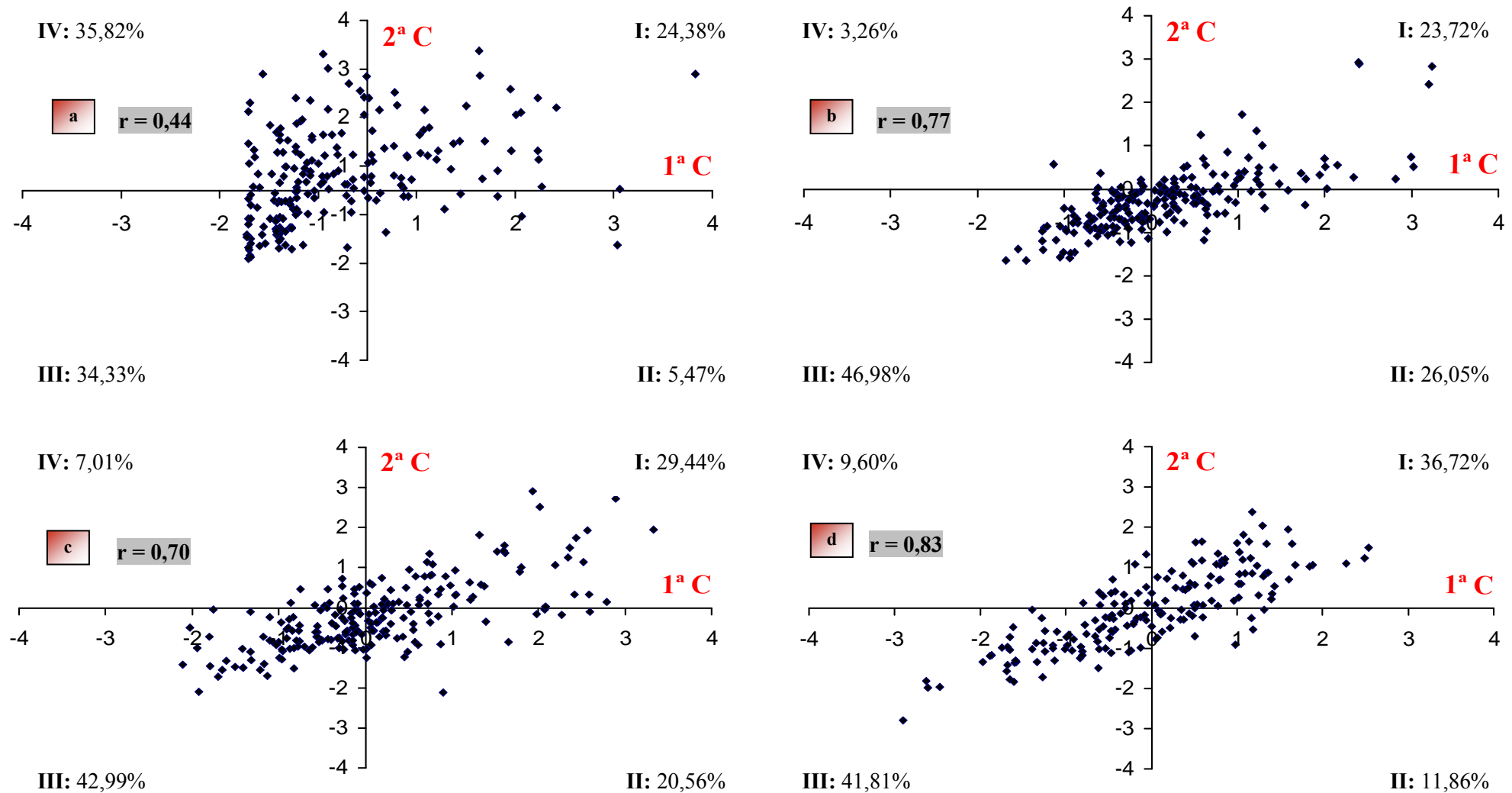
La consistencia entre años de otros parámetros evaluados en progenies olivo ha sido analizada por diversos autores. León *et al.* (2004c) estudiaron la composición de ácidos grasos y en todos obtuvieron altos coeficientes de correlación entre el primer y segundo año evaluados. Por el contrario, León *et al.* (2005a) observaron una baja consistencia, entre años para los valores de fuerza de retención de fruto. Asimismo, para la relación fuerza de retención-peso del fruto obtuvieron coeficientes de correlación más altos y significativos, pero una baja consistencia entre las posibles combinaciones entre años. Estos resultados sugieren que los valores obtenidos para estos parámetros durante el primer año no son indicadores fiables para una selección temprana.

En olivos silvestres, las altas correlaciones alcanzadas en dos años consecutivos para parámetros morfológicos del fruto, indican la consistencia de los datos, con una baja influencia ambiental (Belaj *et al.*, 2011).

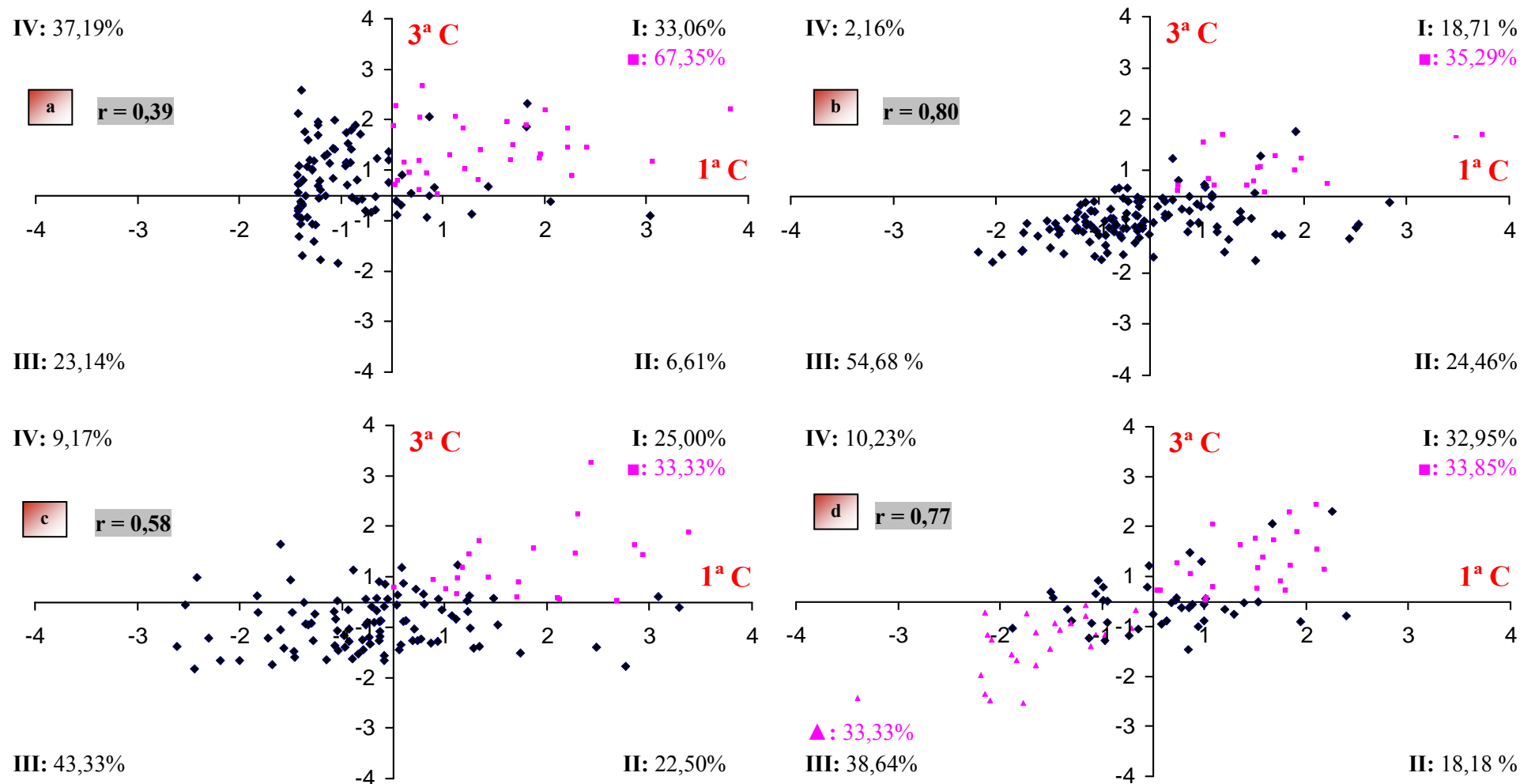
Además de los coeficientes de correlación se han elaborado gráficos de dispersión entre años para *producción*, *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso* y *rendimiento graso sobre peso seco* (Figuras 28 y 29). Para todos ellos se han utilizado los valores normalizados de 1ª-2ª C cosecha (Figura 28) y 1ª-3ª C cosecha (Figura 29). Además, para los mismos caracteres, se han representado, en rosa, los porcentajes y los genotipos con valores normalizados positivos (para los cuatro parámetros) y negativos (sólo para el parámetro rendimiento graso) para las tres cosechas (Figura 29). En todos los gráficos se muestra el porcentaje de genotipos en cada cuadrante (primero (I), segundo (II), tercero (III) y cuarto (IV)) y los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) obtenidos para cada carácter.

Cuando se utilizan caracteres deseables como criterio de selección, aquellos individuos situados en el primer cuadrante (I) serían los más interesantes, los del tercer cuadrante (III), con valores negativos para todas las cosechas consideradas, podrían ser descartados. La selección de los genotipos observados en los otros dos cuadrantes (segundo (II) y cuarto (IV)) resulta más complicada, en particular para aquellos con valores negativos en la primera cosecha y positivos en la segunda o tercera. Si tomáramos como referencia una sola cosecha, supondría descartar genotipos potencialmente interesantes.

**Figura 28.-** Gráficos de dispersión obtenidos con los valores normalizados de primera ( $1^a$  C) y segunda cosecha ( $2^a$  C) para los parámetros producción (a), peso del fruto (b), relación pulpa-hueso (c) y rendimiento graso sobre peso seco (d). Se indica además, los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) y el porcentaje de genotipos en cada cuadrante (primero (I), segundo (II), tercero (III) y cuarto (IV)).



**Figura 29.-** Gráficos de dispersión obtenidos con los valores normalizados de primera (1ª C) y tercera cosecha (3ª C) para los parámetros producción (a), peso del fruto (b), relación pulpa-hueso (c) y rendimiento graso sobre peso seco (d). Se indica además, los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) y el porcentaje de genotipos en cada cuadrante (primero (I), segundo (II), tercero (III) y cuarto (IV)). En color rosa se indican los porcentajes y los genotipos con valores normalizados positivos (■) y negativos (▲) para las tres cosechas.



Para el parámetro *producción* se observa una gran dispersión de puntos con una correlación baja (0,44 y 0,39). Como hemos dicho anteriormente, haría falta incrementar el número de años de evaluación para poder seleccionar genotipos por este carácter. Los más interesantes estarían localizados en el primer cuadrante (I) de los gráficos de dispersión, es decir, aquellos con valores normalizados positivos en las dos cosechas de referencia (Figuras 28a y 29a). El porcentaje de genotipos en este cuadrante aumentó del 24,38% para 1ª-2ª C cosecha (Figura 28a) a 33,06% para 1ª-3ª C cosecha (Figura 29a). Este incremento fue debido a la edad de la progenie. Indicar que el 67,35% de los genotipos que tuvieron valores positivos en las dos primeras cosechas, lo obtuvieron también en la tercera (Figura 29a).

Para este mismo carácter, los genotipos de primera (1ª C) con segunda cosecha (2ª C) se distribuyeron prácticamente en la misma proporción para el tercer (34,33%) y cuarto cuadrante (35,82%), alcanzándose un menor porcentaje en el segundo cuadrante (5,47%) (Figura 28a). Estas proporciones variaron al comparar primera (1ª C) con tercera cosecha (3ª C): primero (33,06%), segundo (6,61%), tercer (23,14%) y cuarto cuadrante (37,19%) (Figura 29a). León *et al.* (2004d) encontraron resultados similares. Estos resultados, junto con los bajos coeficientes de correlación observados en los tres años evaluados dificultan la selección de genotipos.

En los últimos años, la calidad se ha convertido en un objetivo importante en los programas de mejora de aceituna de mesa (Rallo *et al.*, 2011b). En el caso del programa de la Universidad de Sevilla, esa calidad se basa en la obtención de variedades con elevado tamaño de fruto, alta relación pulpa-hueso y alto/bajo rendimiento graso, entre otros. Resultados interesantes se obtuvieron precisamente para *peso de fruto*, *relación pulpa-hueso* y *rendimiento graso sobre peso seco* (Figuras 28 y 29).

En el gráfico de primera (1ª C) con segunda cosecha (2ª C), el 23,72% de los genotipos presentaron para *peso del fruto* valores positivos en las dos cosechas analizadas, frente a un 46,98% que tuvieron valores negativos en ambas (Figura 28b). Porcentajes similares se obtuvieron para la *relación pulpa-hueso*: 29,44% con valores positivos en las dos cosechas y 42,99% con valores negativos (Figura 28c). En ambos casos, los mejores genotipos (con mayor *tamaño de fruto* y alta *relación pulpa-hueso*) se encontraron en el primer cuadrante.

En cuanto a los resultados obtenidos para estos dos caracteres en los gráficos de primera (1ª C) con tercera cosecha (3ª C), indicar que las proporciones para cada cuadrante son similares a las obtenidas en primera (1ª C) con segunda cosecha (2ª C): I (18,71%) y III

(54,68%) para *peso del fruto* (Figura 29b) y I (25,00%) y III (43,33%) para *relación pulpa-hueso* (Figura 29c). Asimismo, el porcentaje de genotipos que tuvieron valores positivos en las dos primeras cosechas y que también lo tuvieron en el tercera fue del 35,29% para *peso del fruto* (Figura 29b) y del 33,33% para *relación pulpa-hueso* (Figura 29c).

Aunque los porcentajes en el tercer cuadrante fueron superiores al resto, en los dos gráficos considerados y para ambos parámetros, los obtenidos en el primer cuadrante resultan lo suficientemente altos para permitir la selección de genotipos en función de estos caracteres.

Para los tres parámetros (*peso del fruto*, *relación pulpa-hueso* y *rendimiento graso sobre peso seco*) y cosechas consideradas (1<sup>a</sup>-2<sup>a</sup> C y 1<sup>a</sup>-3<sup>a</sup> C), gran parte de la progenie se distribuyó entre el primer y tercer cuadrante, existiendo un menor número de genotipos en el segundo y cuarto cuadrante, lo cual facilita mucho su selección.

Resultados similares se han obtenido en trabajos sobre calidad de aceite, realizados durante dos años en progenie de olivo (León *et al.*, 2004c). El mayor porcentaje de genotipos para contenido en ácido oleico se encontraban en el primer cuadrante del gráfico de dispersión. Resultados opuestos se alcanzaron para el ácido linoleico, donde el mayor porcentaje de los genotipos se localizaban en el tercer cuadrante. Esto facilitaría la selección de nuevos cultivares, con alto contenido en ácido oleico y bajo para linoleico, objetivos marcados por el programa de mejora de la Universidad de Córdoba (Barranco *et al.*, 2011).

Para el *rendimiento graso*, los criterios de selección varían en función del tipo de aceituna que se quiera obtener. Para una variedad de doble aptitud, los mejores genotipos se encuentran en el primer cuadrante. Por el contrario, si lo que queremos es una variedad de aceituna de mesa, con bajo redimiendo graso, habría que fijarse en el tercer cuadrante.

Para este carácter existió mucha variación entre cuadrantes y cosechas. Para primera (1<sup>a</sup> C) con segunda cosecha (2<sup>a</sup> C) (Figura 28d) y para primera (1<sup>a</sup> C) con tercera (3<sup>a</sup> C) (Figura 29d), los mayores valores se alcanzaron en el tercer (41,81% y 38,64%, respectivamente) y primer cuadrante (36,72% y 32,95%, respectivamente). Para el mismo carácter, León *et al.* (2004d) obtuvieron resultados similares

Los genotipos que presentaron valores positivos para *rendimiento graso sobre peso seco* en las dos primeras cosechas y que también lo tuvieron en la tercera fueron del 33,85% y un 33,33% en el caso de negativos (Tabla 29d).

En trabajos de progenies de olivo para aceite, los genotipos con contenido de ácidos grasos más altos o más bajos que la media (valores normalizados positivos o negativos, respectivamente) en el primer año, mostraron esa misma tendencia en los siguientes años (León *et al.*, 2004c).

El bajo coeficiente de correlación obtenido para *producción* (0,44 para primera (1ª C) con segunda cosecha (2ª C) (Figura 28a) y 0,39 para primera (1ª C) con tercera (3ª C) (Figura 29a)), indica la complejidad de evaluar la progenie para este carácter. Como se comentó anteriormente, esto implica que sería necesario varios años de evaluación para realizar la selección de individuos en función de este parámetro. Debido a las dificultades que presenta, la mayoría de los programas de mejora lo consideran en las fases finales (León *et al.*, 2004b).

Los altos coeficientes de correlación alcanzados para *peso del fruto* (0,77 para primera (1ª C) con segunda cosecha (2ª C) (Figura 28b) y 0,80 para primera (1ª C) con tercera (3ª C) (Figura 29b)), junto con el alto porcentaje de genotipos con valores positivos en todas las cosechas consideradas (35,29%) (Figura 29b), permite seleccionar individuos potencialmente interesantes con sólo un año de evaluación.

Del mismo modo, se podría seleccionar genotipos en función del *rendimiento graso sobre peso seco*, con una alta consistencia en las correlaciones obtenidas (0,83 para primera (1ª C) con segunda cosecha (2ª C) (Figura 28d) y 0,77 para primera (1ª C) con tercera (3ª C) (Figura 28d)) y los altos porcentajes de individuos que se sitúan en las tres cosechas en el mismo cuadrante (I: 33,85% y III: 33,33%) (Figura 29d). Esto facilitaría la selección en función de la aptitud del nuevo cultivar a obtener por el programa de mejora.

Por el contrario, la *relación pulpa-hueso* presenta valores menos consistentes para las correlaciones obtenidas (0,70 para primera (1ª C) con segunda cosecha (2ª C) (Figura 28c) y 0,58 para primera (1ª C) con tercera (3ª C) (Figura 29c)). Esto conlleva que sean necesarios más años de evaluación, aunque exista un elevado porcentaje de individuos con valores positivos en todas las cosechas estimadas (33,33%) (Figura 29c).

## CAPÍTULO 2



### **2.1.- Puesta a punto de una metodología para el análisis histológico del fenómeno del moleestado en aceituna de mesa**



# ÍNDICE

---

<b>2.1.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-</b>	<b>133</b>
<b>2.1.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-</b>	<b>135</b>
<b>2.1.2.1.- Material vegetal, daño inducido a los frutos y aderezo.-</b>	<b>135</b>
2.1.2.1.1.- Campaña 2008.-	135
2.1.2.1.2.- Campaña 2009.-	138
<b>2.1.2.2.- Fijación de los frutos.-</b>	<b>140</b>
<b>2.1.2.3.- Proceso histológico.-</b>	<b>140</b>
<b>2.1.2.3.1.- Recorte de la zona dañada.-</b>	<b>140</b>
2.1.2.3.1.1.- Frutos aderezados con <i>molestado no inducido</i> . Campaña 2008.-	140
2.1.2.3.1.2.- Frutos frescos (sin aderezar) con <i>molestado inducido</i> . Campaña 2009.-	141
<b>2.1.2.3.2.- Deshidratación.-</b>	<b>142</b>
<b>2.1.2.3.3.- Infiltración, orientación e inclusión en parafina.-</b>	<b>144</b>
<b>2.1.2.3.4.- Obtención de los cortes con el microtomo rotativo.-</b>	<b>147</b>
<b>2.1.2.3.5.- Montaje en portaobjetos.-</b>	<b>147</b>
<b>2.1.2.3.6.- Tinción y desparafinado de los cortes obtenidos.-</b>	<b>148</b>
<b>2.1.2.3.7.- Observaciones realizadas.-</b>	<b>152</b>
<b>2.1.2.4.- Análisis estadístico.-</b>	<b>152</b>
<b>2.1.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.-</b>	<b>152</b>
<b>2.1.3.1.- Puesta a punto de la metodología histológica.-</b>	<b>152</b>
<b>2.1.3.2.- Descripción cualitativa preliminar de los daños por molestado en los frutos sin aderezar y aderezados.-</b>	<b>161</b>
2.1.3.2.1.- Daño externo en fruto entero.-	161
2.1.3.2.2.- Daño observado en las porciones de frutos fijados antes de su procesado en parafina.-	162
2.1.3.2.3.- Daño en las preparaciones histológicas.-	164
<b>2.1.3.3.- Análisis del parámetro “Índice de molestado”.-</b>	<b>170</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 2.1.-

<b>Tabla 41.-</b> Relación de muestras analizadas: se incluyen tanto nuevos genotipos del programa de mejora de la Universidad de Sevilla obtenidos por cruzamientos, como variedades progenitoras.....	136
<b>Tabla 42.-</b> Composición (% en volumen) de las soluciones utilizadas en la deshidratación para los frutos frescos (sin aderezar) de la campaña 2009 y genotipos y variedades progenitoras aderezados de la campaña 2008 (Berlyn y Miksche, 1976)..	142
<b>Tabla 43.-</b> Secuencia utilizada en la deshidratación de los frutos aderezados, procedentes de los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008.....	144
<b>Tabla 44.-</b> Secuencia utilizada en la deshidratación de los frutos frescos (sin aderezar), procedentes de las variedades de la campaña 2009.....	144
<b>Tabla 45.-</b> Secuencia utilizada en la infiltración e inclusión en parafina, para los genotipos y variedades progenitoras aderezadas de la campaña 2008 y para los frutos frescos (sin aderezar) de la campaña 2009.....	145
<b>Tabla 46.-</b> Valores medios e intervalos de confianza de la incidencia del <i>molestado inducido</i> antes del proceso de aderezo, para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008.....	171
<b>Tabla 47.-</b> Valores medios e intervalos de confianza de la incidencia del <i>molestado no inducido</i> después del proceso de aderezo, para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008.....	172
<b>Tabla 48.-</b> Grupos homogéneos según índice de molestado, establecidos mediante tablas de contingencia, antes del proceso del aderezo para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. <i>*Genotipos con la misma letra, forman grupos homogéneos según tablas de contingencias.</i> .....	174
<b>Tabla 49.-</b> Grupos homogéneos según índice de molestado establecidos mediante tablas de contingencia, después del proceso del aderezo para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. <i>*Genotipos con la misma letra, forman grupos homogéneos según tablas de contingencias.</i> .....	174

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

### Capítulo 2.1.-

- Figura 30.-** Diferentes categorías de molestado para el genotipo 02-469 (‘Manzanilla libre’), tanto en grupo como en frutos individuales, tras 4 horas del golpe inducido: (a) 0= Frutos no molestados; (b) 1= Frutos con molestado muy pequeño; (c) 2= Frutos con molestado pequeño; (d) 3= Frutos con molestado grande. .... 137
- Figura 31.-** Resumen de los distintos objetivos y ensayos planteados para los frutos aderezados y frescos de las campañas 2008 y 2009, respectivamente. .... 139
- Figura 32.-** Esquema del recorte de las muestras, realizado a las aceitunas dañadas por el golpe, para obtener dos porciones de mesocarpo (dañado y sin dañar) antes de la deshidratación e infiltración con parafina: (a): aceitunas sin deshuesar, (b): aceitunas ya deshuesadas, (c): rodajas transversales de 4-5 mm, con la zona dañada y la no dañada y (d): las dos porciones obtenidas. .... 141
- Figura 33.-** Ejemplo de la orientación de las porciones molestadas (a) y no dañadas (b) de los frutos de la campaña 2009, durante su colocación en los moldes de parafina... 146
- Figura 34.-** Cortes realizados a un bloque de parafina con el microtomo rotativo (Reichert Histostat 820, Rotary Microtome) (a). Se pueden apreciar las cintas seriadas obtenidas para el genotipo 02-1000, después de los cortes (b) y su posterior montaje en los portaobjetos (c). .... 147
- Figura 35.-** Resumen del proceso histológico seguido por los frutos aderezados y frescos de las campañas 2008 y 2009, respectivamente. .... 151
- Figura 36.-** Fotografías realizadas a los frutos del cultivar Manzanilla de Sevilla: (a) a las 4 horas y (b) a las 24 horas después del impacto, antes de introducirlos en FAE. .... 153
- Figura 37.-** Fotografías realizadas a los frutos del cultivar Manzanilla de Sevilla: (a) a la semana de fijarse con FAE, tras 4 horas del golpe y (b) al mes de fijarse con FAE, tras 24 horas del golpe. .... 153

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

- Figura 38.-** Porción molestada del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, donde se puede apreciar la forma irregular de la muestra obtenida de frutos sin deshuesar (**a**). Porción molestada de 'Manzanilla de Sevilla' de la campaña 2009, tras 4 horas desde el impacto, donde la zona dañada resultó más fácil de obtener y delimitar obtenida de frutos deshuesados (**b**). En todas las imágenes, el exterior del fruto esta hacia arriba y el mesocarpo interior (donde toca al endocarpo) esta abajo. .... 154
- Figura 39.-** Cortes histológicos del genotipo 02-1000 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Gordal Sevillana') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molestado pequeño) (**a**) y de la variedad Manzanilla de Sevilla (campaña 2009), tras 24 horas del impacto (**b**). En ambos cortes se puede observar las incisiones (→) realizadas en la cutícula (a la derecha del corte) de la zona dañada por el golpe. Corte histológico del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, a las 24 horas del impacto con una incisión demasiado intensa en su cutícula (a la izquierda del corte) (**c**). .... 155
- Figura 40.-** Zonas molestadas de diferentes frutos frescos (sin aderezar) de 'Manzanilla de Sevilla' (**a** y **b**) y 'Hojiblanca' (**c** y **d**) de la campaña 2009 incluidas en los moldes de parafina, tras 4 (**a** y **b**) y 24 horas (**c** y **d**) del impacto. Las porciones con safranina (**b** y **d**) introducida en el paso IV de la deshidratación, se pudieron visualizar exactamente igual que aquellas donde no ha sido añadida (**a** y **c**). .... 156
- Figura 41.-** Cortes histológicos de la variedad Hojiblanca de la campaña 2009, tras 4 horas del impacto y después de la incorporación de safranina en el paso IV de la deshidratación. En ellos se puede visualizar el contorno de la zona dañada (**a**), gracias a la presencia de células más coloreadas (→) (**b**). .... 157
- Figura 42.-** Cortes histológicos del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molestado pequeño) (**a**) y del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, tras 24 horas del impacto (**b**), donde se puede apreciar la falta de homogeneidad entre ambos cortes. .... 158

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

- Figura 43.-** Cortes histológicos del genotipo 02-857 ('Arbequina' x 'Manzanilla de Sevilla') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molestado pequeño) realizadas con el microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) y con un grosor de 12  $\mu\text{m}$ . Los cristales de sal originados en el proceso de aderezo ( $\longrightarrow$ ), ocasionaron un deterioro en los cortes seriados obtenidos (**a, b y c**). ..... 159
- Figura 44.-** Corte histológico del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, categoría 0 (Frutos sin molestado) realizadas con el microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) y con un grosor de 18  $\mu\text{m}$  (**a**). Corte histológico del cultivar Hojiblanca de la campaña 2009, tras 4 horas del impacto, con safranina en el IV paso de la deshidratación y realizadas con un grosor de 12  $\mu\text{m}$  (**b**). En ambos cortes histológicos se puede apreciar la óptima calidad de los mismos. .... 159
- Figura 45.-** Cortes histológicos del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, tras 24 horas del impacto y después de las tinciones realizadas en el proceso histológico: (**a**) tinción ácido tánico, cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), safranina y fast green (verde) y (**b**) tinción de azul de toluidina (0,05%) durante 60 minutos. Se puede apreciar que los resultados entre ambas tinciones son similares. .... 161
- Figura 46.-** Fotografías de las manchas producidas por los golpes (*molestado inducido*) de los frutos frescos (sin aderezar) de 'Manzanilla de Sevilla' a diferentes horas: dos horas (**a**), cuatro horas (**b**) y para el genotipo 02-469 ('Manzanilla libre') a las 24 horas tras el golpe (**c**). ..... 162
- Figura 47.-** Porciones obtenidas en el proceso de recorte de 'Manzanilla de Sevilla' (**a y c**) y 'Hojiblanca' (**b y d**) de la campaña 2009, tras 4 (**a y b**) y 24 (**c y d**) horas del golpe (*molestado inducido*). Para ambas variedades y tiempos, se pudo observar huecos y una coloración más oscura en las zonas dañadas. 'Manzanilla de Sevilla' fue la que presentó una mayor coloración y tamaño de huecos que 'Hojiblanca', tanto a las 4 (**a**) como a las 24 horas (**c**) del golpe. .... 163

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 48.-** Cortes histológicos de frutos frescos (sin aderezar) de ‘Manzanilla de Sevilla’ a 4 (a) y 24 horas tras el impacto (b) y de ‘Hojiblanca’ a 4 (c) y 24 horas tras el golpe (d). Se puede apreciar la presencia de huecos (◀) a lo largo del mesocarpo, siempre hacia el interior de la epidermis, sin afectarla directamente (◀◀), llegando incluso a veces al endocarpo de los frutos..... 165

**Figura 49.-** Cortes histológicos de porciones molestadas de los cultivares Manzanilla de Sevilla y Hojiblanca de la campaña 2009: (a) detalle de la pérdida de grosor de la pared celular en ‘Manzanilla de Sevilla’ (→), tras 24 horas del impacto, (b) detalle de la pérdida de grosor de la pared celular en ‘Hojiblanca’ (→), tras 24 horas del impacto y (c) ‘Manzanilla de Sevilla’ tras 4 horas del impacto, dónde se puede apreciar solo la presencia de huecos (→) sin la pérdida de grosor en las paredes de la zona dañada..... 166

**Figura 50.-** Cortes histológicos de porciones molestadas: (a) del genotipo 02-625, categoría 2 (frutos molestado pequeño) de la campaña 2008, con un grosor de 18µm, (b) ‘Manzanilla de Sevilla’, categoría 2 (frutos molestado pequeño) de la campaña 2008, con grosor de 12 µm y (c) ‘Manzanilla de Sevilla’ de la campaña 2009, tras 24 horas desde el impacto y con un grosor de 12 µm. En todos los cortes se pueden visualizar que las células modificadas de la zona dañada por el golpe (*molestado no inducido* e *inducido*, respectivamente) no llegaban a afectar a la epidermis (◀◀), sino que se encontraban siempre debajo de esta hacia el interior de los cortes (→). ..... 166

**Figura 51.-** Cortes histológicos de porciones molestadas y no dañadas del genotipo 02-1000 (‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’) de la campaña 2008, categoría 3 (frutos molestado grande) y con un grosor de 18µm: (a) se puede apreciar zonas con paredes celulares más delgadas (→), (b) detalle de la pérdida de grosor (→) de la pared celular y (c) corte histológico de una zona no dañada. .... 167

**Figura 52.-** Porción molestada del genotipo 02-1000 (‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’) con categoría 2 (frutos molestado pequeño) incluida en el molde individual de parafina (a) y su correspondiente corte histológico (b). En este último, se pudo apreciar zonas con pérdida de grosor en las paredes celulares (→) fuera de la zona molestada (coloración más intensa) provocada por el golpe (*molestado no inducido*)..... 168

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 53.-** Cortes histológicos del genotipo 02-615 (‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’) con categoría 2 (frutos molestado pequeño) (**a**) y de ‘Manzanilla de Sevilla’ con categoría 2 (**b**) y 1 (**c**) (frutos molestado pequeño y frutos molestado muy pequeño, respectivamente) de la campaña 2008. En (**a**) se puede apreciar que el daño histológico (pérdida de grosor) (→) es mucho mayor que la categoría visual asignada. En (**b**) y (**c**) se puede apreciar que el daño histológico (pérdida de grosor) (→) coincide con la categoría visual asignada..... 175

### 2.1.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-

La determinación de la calidad en aceituna de mesa es de especial importancia y requiere de técnicas de medición eficaces. Uno de los aspectos más importantes a evaluar es el fenómeno del molestado, ya que está directamente relacionado con la calidad final de los frutos. El término “molestado” hace alusión a la aparición de manchas oscuras en la piel de la aceituna como consecuencia de los golpes que se suelen producir en la recolección y que se mantienen incluso después del proceso de fermentación (Segovia-Bravo *et al.*, 2011). La determinación de la calidad tras la recolección debe ser rápida y objetiva, siendo necesario utilizar métodos basados en las tecnologías actuales. El desarrollo de técnicas eficaces y eficientes para la detección de molestado en frutos significaría un mayor valor para la industria y fruta de mayor calidad para el consumidor.

En los últimos años, se han publicado diferentes trabajos que estudian dicho fenómeno tanto en aceituna de mesa como en otras especies. Así por ejemplo, los sistemas de visión artificial han demostrado su eficiencia en la evaluación de la calidad en numerosos productos agroalimentarios (Brosnan y Sun, 2004; Xing *et al.*, 2005). Permiten además, la detección de defectos mecánicos en los frutos mediante un análisis hiperespectral de color (combina características de imagen y espectroscopía) consiguiendo clasificar, identificar y eliminar los frutos dañados (Lu *et al.*, 1999).

En frutales como en manzano, se han realizado estudios para la detección temprana de este tipo de daños mediante la utilización de cámaras termográficas (Baranowski *et al.*, 2009), en función de la longitud de onda utilizada. La cantidad de luz absorbida/reflejada en las zonas dañadas es distinta a las zonas sanas, lo que permite detectar los frutos afectados aunque estén aparentemente sanos.

En aceituna, especialmente en ‘Manzanilla de Sevilla’, se puede realizar una clasificación en diferentes categorías utilizando sistemas de visión artificial. Estos se basan en imágenes captadas por una cámara y su posterior procesamiento mediante programas informáticos (Díaz *et al.*, 2004), a las que se le pueden acoplar sensores de color (Díaz *et al.*, 2000) o espectrofotómetros (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2012; Riquelme *et al.*, 2008). Otros determinan el daño sufrido por las aceitunas en función del tipo de recolección (Castro-García *et al.*, 2009) y su evolución en el tiempo mediante una técnica de procesamiento digital de imágenes (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011). La aplicación de la tecnología NIRS (Near Infrared Spectroscopy), se utiliza satisfactoriamente para la

incidencia de daños en otros frutos como manzanas (Lee *et al.*, 2005; Lu, 2003) y longan (Pholpho *et al.*, 2011).

También, se han desarrollado en distintas especies nuevos métodos para determinar un índice de estimación de la susceptibilidad para este tipo de daños. Se basan en análisis de regresión múltiple, lineales y no lineales, teniendo en cuenta variables físicas, morfológicas y relativas al impacto: en manzanas (Menessatti *et al.*, 2002), peras, melocotón y albaricoque (Menessatti y Paglia, 2001).

Por otro lado, existen muy pocos trabajos que estudien este fenómeno a nivel anatómico mediante procedimiento histológico en especies frutales (Crisosto *et al.*, 1993; Mitsuhashi-Gonzalez *et al.*, 2010) y prácticamente ninguno en el caso de la aceituna de mesa. La posibilidad de conocer cómo los diferentes tejidos de la aceituna se implican en el molestado, permitiría, por un lado, una mejor comprensión del problema y por otro, desarrollar una herramienta de selección de variedades o genotipos por características anatómicas que confieran una mayor resistencia al molestado. Este último aspecto es particularmente interesante en el contexto del programa de mejora de aceituna de mesa de la Universidad de Sevilla (US) en el que se desarrolla este trabajo.

El objetivo principal de este capítulo ha sido la puesta a punto de un procedimiento de inducción del molestado y de una metodología histológica válida para describir y estudiar el fenómeno del molestado en aceitunas. Dado que el proceso de aderezo industrial afecta a la visualización del molestado (generalmente lo disminuye) se han estudiado tanto frutos frescos (sin aderezar) como aceitunas de mesa elaboradas (aderezados). Una línea de investigación interesante para futuros estudios sería analizar, tanto la respuesta de diferentes genotipos, como el desarrollo temporal de la misma. Para el desarrollo metodológico de este estudio se emplearían frutos de diferentes genotipos o cultivares que se observarían a diferentes tiempos tras provocar el molestado (diferentes tiempos para el desarrollo de los síntomas).

Se trata de un objetivo metodológico que se ha concretado en otros específicos detallados a continuación:

- 1.- Producir un daño mediante golpe estandarizado a frutos frescos (*molestado inducido*) y evaluar como afecta a la calidad visual de los frutos el tiempo transcurrido desde dicho golpe hasta su fijación.
- 2.- Evaluar si el proceso de fijación (requisito inicial del procesado histológico y método de conservación de muestras para su subsiguiente análisis histológico) afecta a la visualización de las manchas producidas en frutos por el golpe estandarizado



(*molestado inducido*) y, por tanto, a la necesaria identificación de las zonas afectadas para su estudio.

3.- Desarrollar un método de recorte, orientación y tinción adecuados para el estudio histológico de la zona dañada en fruto fresco y en fruto aderezado.

4.- Hacer una descripción preliminar cualitativa de los daños por molestado a nivel anatómico: en fruto fresco con *molestado inducido* y en fruto aderezado con *molestado no inducido*.

5.- Hacer una primera evaluación de la incidencia de molestado en genotipos seleccionados del programa de mejora mediante categorías visuales y estudiar la correspondencia, por un lado, entre *molestado inducido* en fruto fresco y *molestado no inducido* en fruto aderezado, y por otro, entre categorías de molestado y observaciones histológicas.

## **2.1.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-**

### **2.1.2.1.- Material vegetal, daño inducido a los frutos y aderezo.-**

#### **2.1.2.1.1.- Campaña 2008.-**

Para abordar el objetivo 1 (evolución visual del daño tras *molestado inducido* en fruto fresco) se eligieron **14 genotipos** del programa de mejora de aceituna de mesa de la US y **tres variedades progenitoras** ('Manzanilla de Sevilla', 'Gordal Sevillana' y 'Arbequina') (Tabla 41). Los árboles fueron seleccionados de un total de 246 que fructificaron en cantidad suficiente en dicha campaña, destacando del resto de progenies por su mayor peso de fruto y su alta relación pulpa/hueso. Estos genotipos proceden de cruzamientos entre distintas variedades realizados en el año 2002, y se encuentran plantados desde el año 2004 en una parcela del IFAPA, Centro "Las Torres-Tomejil" de Alcalá del Río (Sevilla) (Rallo *et al.*, 2008b).

**Tabla 41.-** Relación de muestras analizadas: se incluyen tanto nuevos genotipos del programa de mejora de la Universidad de Sevilla obtenidos por cruzamientos, como variedades progenitoras.

Genotipo	Cruzamiento
02-1000	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’
02-1003	“
02-1030	“
02-1038	“
02-186	‘Manzanilla Libre’
02-381	“
02-383	“
02-469	“
02-559	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’
02-601	“
02-615	“
02-829	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’
02-857	“
02-884	“
‘Arbequina’	Progenitor
‘Gordal Sevillana’	“
‘Manzanilla de Sevilla’	“

En septiembre de 2008, se recogieron frutos de los 17 árboles seleccionados de forma manual mediante ordeño con macaco. Se seleccionó una submuestra de 100 frutos verdes no dañados por genotipo. Éstos se dejaron caer desde una altura de un metro sobre el suelo de una parcela llana (*molestado inducido*) y se colocaron posteriormente en bandejas de poliespan previamente etiquetadas.

Los frutos se clasificaron en cuatro categorías según el tamaño de las manchas observadas (modificado de Morales-Sillero, 2005): Frutos no molestados; **1**= Frutos con molestado muy pequeño; **2**= Frutos con molestado pequeño; **3**= Frutos con molestado grande (Figura 30). A partir de estos datos se calculó un Índice de Molestado (**I. Mo.**) de la siguiente manera:

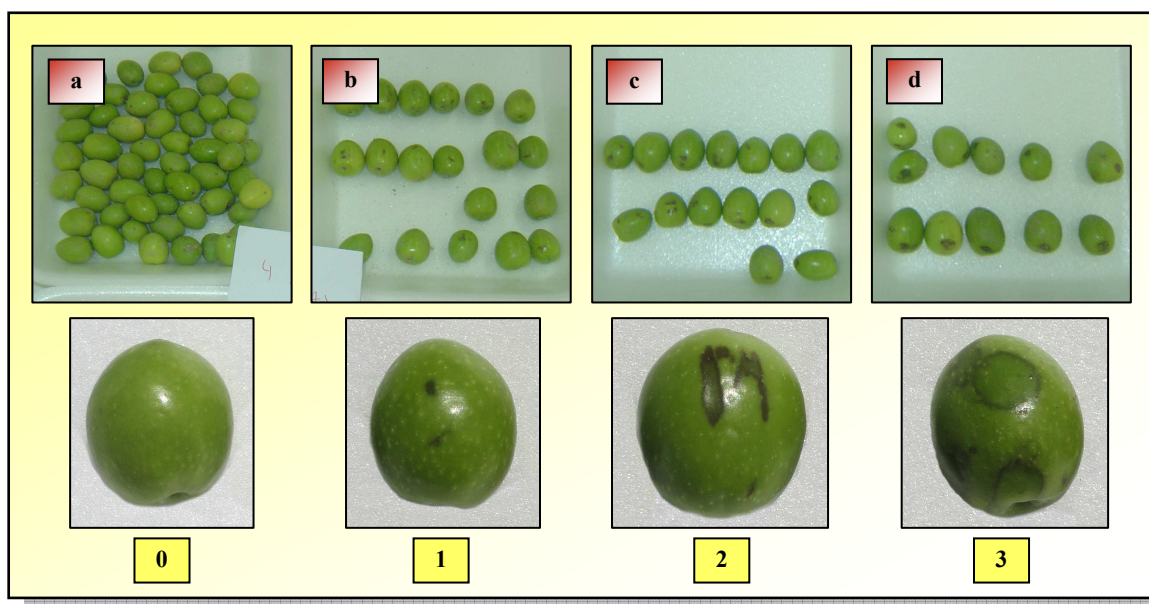
$$I. Mo. = \frac{(0 \times n_0) + (1 \times n_1) + (2 \times n_2) + (3 \times n_3)}{N}$$

donde:

- ‘ $n_x$ ’ es el número de frutos en cada categoría (‘ $x$ ’ = ‘0’, ‘1’, ‘2’, ‘3’).
- ‘ $N$ ’ el número total de frutos.

Posteriormente, se realizaron fotografías de todos los genotipos a las 2, 4, 6, 8, 10 y 24 horas tras el golpe, para observar la evolución de las manchas.

**Figura 30.-** Diferentes categorías de molestado para el genotipo 02-469 ('Manzanilla libre'), tanto en grupo como en frutos individuales, tras 4 horas del golpe inducido: (a) 0= Frutos no molestados; (b) 1= Frutos con molestado muy pequeño; (c) 2= Frutos con molestado pequeño; (d) 3= Frutos con molestado grande.



Para evaluar la incidencia del molestado tras el proceso de aderezo (*objetivo 5*), muestras de frutos sin *molestado inducido* de los 17 genotipos seleccionados, se aderezaron en verde o “estilo sevillano” en el Instituto de la Grasa (Sevilla), siendo este el procedimiento más utilizado en la industria española del aderezo (Sánchez-Gómez *et al.*, 2006).

Para cada genotipo y variedad se utilizaron dos fermentadores, en condiciones anaeróbicas, de 3 L de capacidad cada uno. A continuación, en cada fermentador se colocaron 1,8 kg de frutos y se sometieron durante aproximadamente seis horas a un tratamiento de “cocido”, en una solución diluida de hidróxido sódico (lejía) de 1,2 L al 1.9%. Posteriormente, se procedió al lavado de las muestras con agua durante aproximadamente 16,5 horas y a la colocación en salmueras del 10,75%. A los ocho días se inoculó con *Lactobacillus pentosus* LP91 (10 mL/fermentador de una suspensión del 1% de sal), para que el fermentador tuviera aproximadamente  $10^6$  UFC/mL. La fermentación láctica transcurrió, a temperatura ambiente, hasta principios de marzo de 2009.

Una vez concluido el proceso de aderezo, se seleccionó al azar una submuestra de 80 frutos de cada genotipo, variedad y fermentador, clasificándose según las categorías anteriormente mencionadas. Igualmente, se calculó el índice de molestado (**I. Mo.**) de la forma descrita previamente.

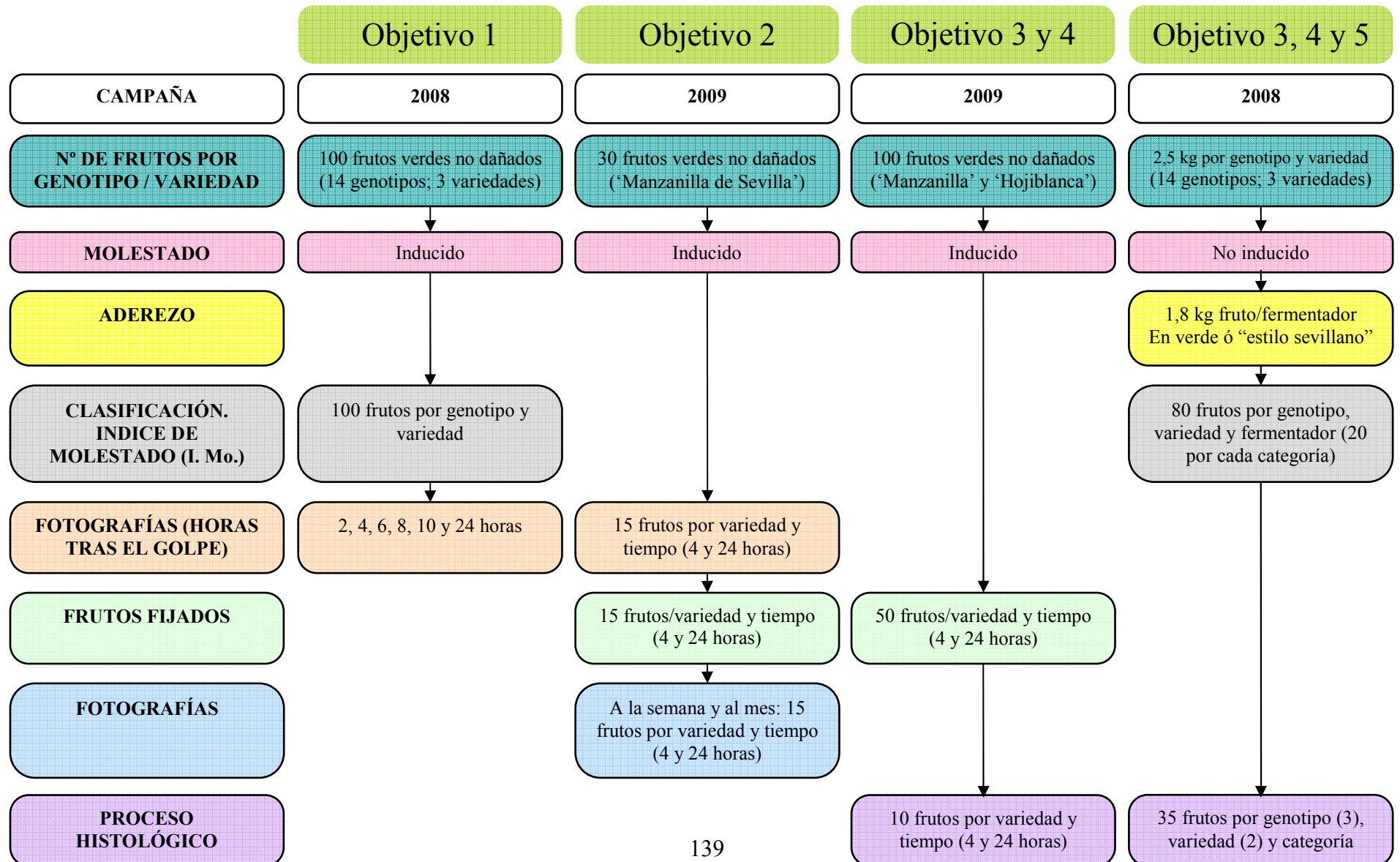
Por último, del total **de frutos aderezados** se seleccionaron al azar **tres genotipos**: 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina'), 02-857 ('Arbequina' x 'Manzanilla de Sevilla') y 02-1000 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Gordal Sevillana') y **dos variedades progenitoras** ('Manzanilla de Sevilla' y 'Gordal Sevillana') para su estudio histológico (objetivos 3 y 4). Para ello, se tomaron 20 frutos por variedad, genotipo y categoría de molesto citadas anteriormente (0, 1, 2 y 3).

#### 2.1.2.1.2.- Campaña 2009.-

Para comprobar si la fijación de los frutos afectaba a la visualización de las manchas producidas por *molesto inducido* (objetivo 2), se realizó en la campaña 2009 un ensayo preliminar. Un total de **30 frutos de 'Manzanilla de Sevilla'** sin ningún tipo de daño, fueron recogidos de forma manual en el campo de prácticas de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica (ETSIA) de Sevilla. Los 30 frutos se dejaron caer desde una altura de 1 m (*molesto inducido*) sobre una caja de plástico con un fondo de madera.

Para completar los objetivos 3 y 4, en la campaña 2009 se utilizaron como material vegetal frutos de dos variedades de aceituna de mesa, '**Manzanilla de Sevilla**' y '**Hojiblanca**', que manifiestan diferente susceptibilidad al molesto ('Manzanilla de Sevilla' se considera más sensible, por visualizaciones de la industria). De cada variedad se recogieron a mano muestras de frutos en el momento óptimo de madurez ((IM=1), (Ferreira, 1979), en una finca comercial de La Carlota (Córdoba). Se eligieron 100 frutos sin daños por variedad y se dejaron caer desde una altura de 1 m sobre una caja de plástico con una superficie de madera (*molesto inducido*).

En la figura 31 se describen todos los objetivos y ensayos planteados para los frutos aderezados y frescos de las campañas 2008 y 2009, respectivamente.

**Figura 31.-** Resumen de los distintos objetivos y ensayos planteados para los frutos aderezados y frescos de las campañas 2008 y 2009, respectivamente.

### **2.1.2.2.- Fijación de los frutos.-**

Los frutos aderezados de la campaña 2008 no se fijaron ya que estaban conservados en salmuera, que actúa a modo de fijador.

En la campaña 2009 y para los 30 frutos de ‘Manzanilla de Sevilla’ se realizó un estudio de la reacción del fruto tras el golpe a diferentes tiempos. En consecuencia, en el ensayo preliminar de desarrollo metodológico, se procedió de la siguiente manera: a las 4 horas del golpe, se realizaron fotografías individuales a 15 frutos y se colocaron en FAE (formalina, ácido acético, 95% de etanol y agua destilada (10:5:50:35 v/v/v/v)) (Berlyn y Miksche, 1976). Una vez transcurridas 24 horas del impacto se realizó la misma operación anterior de fotografiar y fijar a otros 15 frutos. A la semana y al mes se realizaron observaciones, mediante fotografías, de los frutos de los diferentes tratamientos (4 y 24 horas) para confirmar si había cambios en la visualización del molestado en los frutos fijados.

Los frutos con *molestado inducido* de las variedades Manzanilla de Sevilla y Hojiblanca procedentes de la plantación comercial fueron fijados y conservados en FAE, en dos lotes cada variedad: 50 frutos a las 4 horas y 50 frutos a las 24 horas desde del impacto.

### **2.1.2.3.- Proceso histológico.-**

#### **2.1.2.3.1.- Recorte de la zona dañada.-**

2.1.2.3.1.1.- Frutos aderezados con *molestado no inducido*. Campaña 2008.-

De los frutos aderezados de los cinco genotipos elegidos (02-615, 02-857, 02-1000, ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Gordal Sevillana’), se seleccionó un total de 35 aceitunas por genotipo con diferentes categorías de molestado para el recorte de zonas dañadas y zonas no dañadas:

- 5 muestras de categoría **0** (Frutos no molestados).
- 10 muestras de categoría **1** (Frutos con molestado muy pequeño).
- 10 muestras de categoría **2** (Frutos con molestado pequeño).
- 10 muestras de categoría **3** (Frutos con molestado grande).

Una vez identificadas visualmente las zonas dañadas de cada categoría, se procedió a realizar los cortes con ayuda de unas cuchillas desechables. Para ello, se introdujo la cuchilla de forma vertical por detrás de la mancha hasta llegar al endocarpo del fruto. A continuación, se perfiló mejor la zona dañada hasta conseguir la muestra o porción deseada. Para recortar las zonas no dañadas se procedió de la misma forma en frutos no molestados.

En todas las porciones dañadas se realizaron unos cortes, mediante cuchillas desechables, a ambos lados de la zona molestada. Estas incisiones, de poca profundidad, fueron efectuadas para delimitar mejor la zona dañada y poder visualizarla con más claridad una vez finalizado todo el proceso histológico.

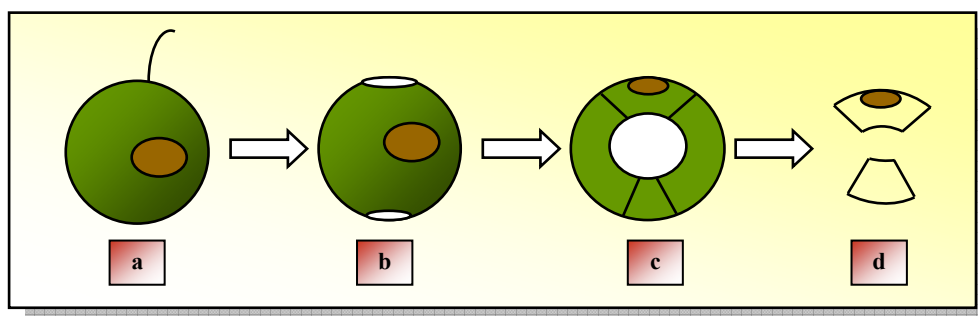
Todos los cortes se realizaron en el interior de una placa petri, y una vez recortadas los trozos fueron introducidas en los botes originales con su salmuera correspondiente. Para evitar su deshidratación durante el proceso de recorte, los frutos se mantuvieron todo el tiempo sumergidos en salmuera.

#### 2.1.2.3.1.2.- Frutos frescos (sin aderezar) con *molestado inducido*. Campaña 2009.-

Del total de frutos fijados en 2009 de ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Hojiblanca’ se tomaron al azar 10 frutos por variedad y tiempo tras el impacto (4 y 24 h), para su posterior estudio histológico, resultando un total de 40 muestras.

En 2009, para la obtención de los trozos cortados tanto de zonas afectadas como no dañadas, se afinó el recorte del fruto mediante el deshuesado previo. Para ello, se realizó primero una rehidratación de los frutos fijados por inmersiones consecutivas en soluciones de alcohol etílico al 70%, 50%, 30% y 10%, con un tiempo mínimo de dos horas entre cambios (Gucci *et al.*, 2009). Tras el deshuesado se realizaron, manualmente con una cuchilla, cortes transversales del mesocarpo de 4 a 5 mm de grosor para cada fruto/tiempo. Una vez obtenidas estas rodajas se realizaron dos tipos de cortes a cada uno de los frutos, uno delimitando la zona dañada por el golpe y otro más estrecho de una zona no dañada (Figura 32).

**Figura 32.-** Esquema del recorte de las muestras, realizado a las aceitunas dañadas por el golpe, para obtener dos porciones de mesocarpo (dañado y sin dañar) antes de la deshidratación e infiltración con parafina: (a): aceitunas sin deshuesar, (b): aceitunas ya deshuesadas, (c): rodajas transversales de 4-5 mm, con la zona dañada y la no dañada y (d): las dos porciones obtenidas.



Al igual que en las porciones dañadas de los frutos aderezados de la campaña 2008, se realizaron pequeñas incisiones a ambos lados de la zona molestada. Estos cortes se hicieron una vez obtenidas todas las porciones dañadas de la campaña 2009.



**2.1.2.3.2.- Deshidratación.-**

En este proceso se elimina de forma progresiva o gradual el agua que se encuentra dentro de los tejidos vegetales utilizando etanol y alcohol butílico terciario (ABT) como agentes deshidratantes (Berlyn y Miksche, 1976). La deshidratación se llevó a cabo tanto en los frutos de origen fresco de 2009 como en los aderezados de 2008, presentando algunas diferencias entre ellos que se comentarán posteriormente en la descripción del proceso. El proceso completo de deshidratación siguió la secuencia que se describe a continuación:

1.- Para cada variedad, genotipo y campaña analizada, se colocaron las dos porciones (molestada y no dañada) de un mismo fruto (campaña 2009) o de diferentes frutos (campaña 2008) en un tubo de vidrio de aproximadamente 55 mm de altura y 22 mm de diámetro. Todos los tubos llevaban en su interior, además de las muestras, una etiqueta de papel identificativa con el nombre del cultivar o genotipo, el número de muestra y horas tras el golpe en su caso, escritos con lápiz. Para los frutos aderezados se anotó también las categorías del molestado anteriormente mencionadas.

2.- Las muestras fueron introducidas en sucesivas soluciones de diferentes proporciones de agua destilada, etanol al 95% y 100% y ABT (Tabla 42). Se realizaron dos cambios al día, con un mínimo de cinco horas entre ellos, excepto en la solución II que estuvo toda la noche. Para evitar que se solidificase tanto el frasco de ABT como las muestras introducidas en este alcohol, se colocaron sobre una placa calefactora a 30-35 °C, permaneciendo los tubos sobre ésta hasta el final del proceso.

**Tabla 42.-** Composición (% en volumen) de las soluciones utilizadas en la deshidratación para los frutos frescos (sin aderezar) de la campaña 2009 y genotipos y variedades progenitoras aderezados de la campaña 2008 (Berlyn y Miksche, 1976).

<b>Componentes</b>	<b>Solución</b>				
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>
<b>Agua destilada</b>	50	30	15	0	0
<b>ABT</b>	10	20	35	55	75
<b>Etanol 95%</b>	40	50	50	45	0
<b>Etanol 100%</b>	0	0	0	0	25



Al estar fijados en FAE, con una concentración en alcohol del 70% aproximadamente, todas las porciones obtenidas en los frutos de la campaña 2009 iniciaron su proceso de deshidratación en la solución II. Por el contrario, las muestras aderezadas de la campaña 2008 fueron colocadas directamente de la salmuera a la solución I, continuando sucesivamente por las demás soluciones citadas anteriormente.

Con el objeto de visualizar mejor la zona dañada por el golpe y facilitar la orientación de las porciones, más adelante en los bloques de parafina, se comprobó la posibilidad de añadir unas gotas de safranina al 2% en etanol al 95% a la solución IV de la deshidratación. Esta operación sólo se realizó en los frutos de la campaña 2009. Normalmente este procedimiento se utiliza cuando se tiene material muy pequeño, poco visible o para dar un poco de coloración roja, que luego se elimina en el proceso de tinción. A veces también se emplea para distinguir algunos detalles en las muestras analizadas, como los haces vasculares.

La safranina se aplicó a un total de 12 porciones (molestadas y no dañadas) del tratamiento “4 horas del impacto” (tres frutos por variedad x dos porciones por fruto), y 20 porciones en el de “24 horas del golpe” (cinco frutos por variedad x dos porciones por fruto).

3.- Las muestras se sometieron a tres cambios (frutos aderezados 2008) o dos cambios (frutos frescos 2009) de ABT puro con un mínimo de 5 horas entre ellos (Tablas 43 y 44).

4.- Una vez finalizado el último cambio del alcohol butílico terciario (ABT) se procedió a introducir las muestras en una mezcla de ABT y aceite de parafina. La proporción de esta muestra fue de (1:1) en los frutos aderezados de la campaña 2008 y de (3:1) en los frutos no aderezados de la campaña 2009. En estos últimos y para mejorar el contacto de las muestras con la solución, se aplicó el vacío durante 30 minutos en el interior de un desecador conectado a una bomba (**Millipore**).

5.- Todos los frutos se introdujeron en otra solución de ABT y aceite de parafina (3:1).

6.- Por último, se colocaron en una mezcla de ABT y aceite de parafina (1:1).

**Tabla 43.-** Secuencia utilizada en la deshidratación de los frutos aderezados, procedentes de los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008.

<b>Día 1</b>	Mañana	<b>Solución I</b>
	Tarde	<b>Solución II</b>
<b>Día 2</b>	Mañana	<b>Solución III</b>
	Tarde	<b>Solución IV</b>
<b>Día 3</b>	Mañana	<b>Solución V</b>
	Tarde	<b>ABT 1</b>
<b>Día 4</b>	Mañana	<b>ABT 2</b>
	Tarde	<b>ABT 3</b>
<b>Día 5</b>	Mañana	<b>ABT + Aceite de parafina 1:1</b>

**Tabla 44.-** Secuencia utilizada en la deshidratación de los frutos frescos (sin aderezar), procedentes de las variedades de la campaña 2009.

<b>Día 1</b>	Mañana	<b>Solución II</b>
<b>Día 2</b>	Mañana	<b>Solución III</b>
	Tarde	<b>Solución IV</b>
<b>Día 3</b>	Mañana	<b>Solución V</b>
	Tarde	<b>ABT 1</b>
<b>Día 4</b>	Mañana	<b>ABT 2</b>
	Tarde	<b>ABT + Aceite de parafina 3:1</b>
<b>Día 5</b>	Mañana	<b>ABT + Aceite de parafina 1:1</b>

**2.1.2.3.3.- Infiltración, orientación e inclusión en parafina.-**

Una vez realizado el último cambio de ABT en la deshidratación, se procedió a la infiltración de las muestras en parafina con un punto de fusión de 56-58 °C (**Histosec, Merck**). Durante este proceso el agente deshidratante (etanol y alcohol butílico terciario (ABT)) se sustituyó por parafina.

Se realizó exactamente igual tanto en los frutos frescos (sin aderezar) como en los aderezados, siguiendo sucesivamente los pasos que a continuación se detallan (Tabla 45).

**Tabla 45.-** Secuencia utilizada en la infiltración e inclusión en parafina, para los genotipos y variedades progenitoras aderezadas de la campaña 2008 y para los frutos frescos (sin aderezar) de la campaña 2009.

<b>Día 6</b>	Mañana	<b>Muestras + parafina (1:1) = Estufa</b>
	Tarde	<b>Retirada del corcho para evaporación ABT</b>
<b>Día 7</b>	Mañana	<b>Parafina</b>
<b>Día 8</b>	Mañana	<b>Parafina</b>
	Tarde	<b>Parafina</b>
<b>Día 9</b>	Mañana	<b>Moldes</b>

1.- En primer lugar se añadió parafina líquida a otros tubos de vidrio, aproximadamente hasta un tercio de su capacidad. Esto resultó suficiente para cubrir posteriormente las muestras. Una vez solidificada la parafina, las porciones fueron depositadas con una pequeña cantidad de ABT procedente del último cambio de la deshidratación. A continuación, se taparon los tubos de vidrio con un tapón de corcho y se colocaron en una estufa a 60 °C.

2.- Una vez introducidas en la estufa, la parafina comenzó a fundirse, bajando la muestra hasta el fondo del tubo, retirándose entonces los tapones de corcho. De esta forma se consiguió una infiltración gradual de la parafina en todas las muestras.

3.- Seguidamente, se quitaron los tapones de corcho dejando que se evaporara el ABT en la estufa durante 24 a 48 horas aproximadamente, hasta notar su olor.

4.- A continuación, se realizaron tres cambios de parafina pura con el objeto de eliminar los restos de alcohol dentro de los tejidos vegetales, no superando dos cambios en un mismo día.

5.- Una vez infiltrado correctamente todo el material, se procedió a la orientación e inclusión de ambas porciones en bloques de parafina utilizando un dispensador (**Dispenser, J. P. Selecta**). Para que no se solidificase las muestras en el interior de los tubos, estos fueron sacados de forma gradual de la estufa y colocados en el interior de otra estufa más pequeña a 60 °C.

Cada una de las porciones (zona molesta y zona no dañada) fue colocada y orientada en el interior de pequeños moldes metálicos con ayuda de una pinza y lanceta.

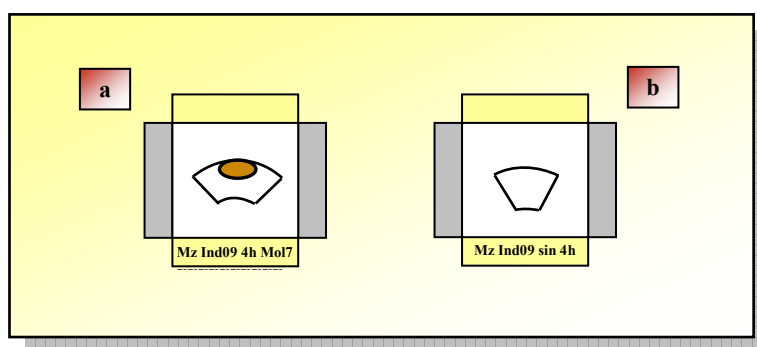
Previamente estos fueron rellenados con parafina líquida y colocados sobre una placa calefactora a 60-70 °C. Durante todo el proceso estas herramientas estaban introducidas en un calentador eléctrico (**Kunz Instruments**). Al estar a la misma temperatura que la placa calefactora estas se mantenían siempre limpias para su posterior empleo.

En todas las muestras las zonas molestadas y no dañadas se orientaron con la cutícula hacia arriba, al lado contrario del borde rotulado en el molde de inclusión (color amarillo), según se indica en la figura 33.

Posteriormente, fueron colocados de forma ordenada en una placa fría entre -10 °C y -20 °C, quedando solidificadas inmediatamente.

6.- A continuación, se dispuso encima otro molde de plástico (moldes de inclusión) (Figuras 33a y 33b) y fueron rellenados gradualmente con parafina líquida. Inmediatamente se colocaron de nuevo en la placa fría, obteniéndose bloques individuales de cada una de las porciones. Una vez enfriado, cada bloque individual se extrajo del molde metálico, manteniéndose el de inclusión, que servirá posteriormente como soporte en el proceso de corte con microtomo.

**Figura 33.-** Ejemplo de la orientación de las porciones molestadas (a) y no dañadas (b) de los frutos de la campaña 2009, durante su colocación en los moldes de parafina.



Para facilitar el trabajo, los moldes de inclusión de ambas campañas, fueron previamente rotulados. Se indicó la abreviatura del nombre del cultivar (Mz y Hoj), código de los genotipos (02-615, 02-857 y 02-1000), tipo de golpe (*inducido* (Ind)), campaña (08 y 09), horas tras el impacto (4 y 24 h), número del fruto (Ej.: Mol 7) y categorías de molestado (Mol 0, Mol 1, Mol 2 y Mol 3).

7.- Una vez que ambos moldes estuvieron completamente fríos se procedió a separarlos, terminando así el proceso de inclusión en parafina.

#### 2.1.2.3.4.- Obtención de los cortes con el microtomo rotativo.-

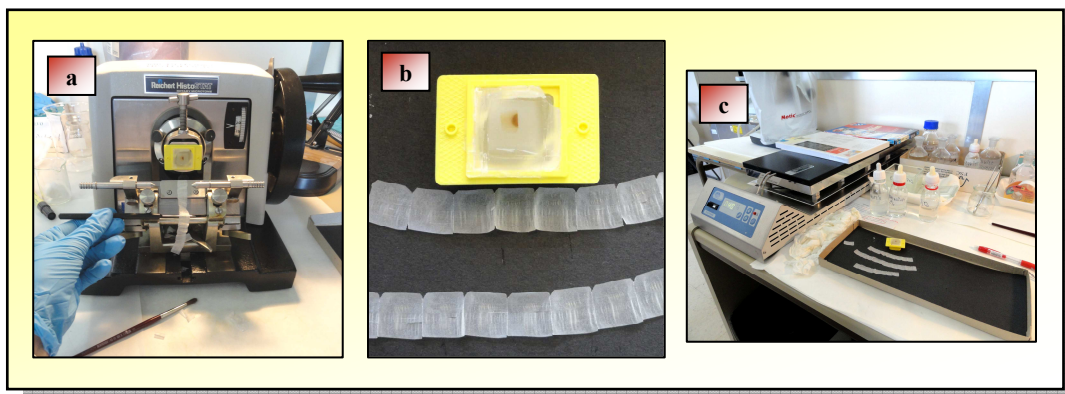
Una vez obtenidos los bloques de parafina y pasado un mínimo de 24 horas para que se enfriaran completamente, se procedió a realizar los cortes de cada una de las muestras con un microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) (Figura 34a).

Previamente, y con ayuda de cuchillas desechables, se recortaron (tallaron) los bordes del bloque eliminando el exceso de parafina alrededor de las muestras manteniendo el paralelismo entre los lados opuestos de los cortes o secciones.

Se realizaron cortes seriados con un grosor variable entre 12  $\mu\text{m}$  y 18  $\mu\text{m}$ , en función del origen de la muestra (fruto fresco o aderezado). A medida que se fueron obteniendo las cintas de los cortes seriados (Figura 34b), éstas fueron introducidas en cajas de cartón para su posterior montaje en portaobjetos (Figura 34c).

Para aumentar la dureza de la parafina y facilitar los cortes con el microtomo, se probaron dos estrategias. Una de ellas consistió en introducir los bloques en un congelador a -20 °C durante 24 horas. La segunda opción fue colocar los bloques en el interior de una caja de poliespan con una pequeña cantidad de agua en el fondo. A continuación, se colocó hielo picado por encima durante aproximadamente tres horas.

**Figura 34.-** Cortes realizados a un bloque de parafina con el microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) (a). Se pueden apreciar las cintas seriadas obtenidas para el genotipo 02-1000, después de los cortes (b) y su posterior montaje en los portaobjetos (c).



#### 2.1.2.3.5.- Montaje en portaobjetos.-

Las cintas de cortes seriados obtenidos en el paso anterior se montaron en portaobjetos sobre una placa calefactora a 40-43 °C, efectuando el siguiente procedimiento:

- 1.- En primer lugar se limpiaron los portaobjetos con alcohol etílico del 70% y unas gotas de detergente líquido, secándose posteriormente con papel de filtro.
- 2.- Se rotularon con la misma nomenclatura empleada para los bloques de inclusión, indicados en el apartado 2.1.2.3.3., y se colocaron sobre la placa calefactora.

3.- Se añadió a cada uno una gota de un adhesivo de Haupt's (1 g de gelatina pura disuelta en 100 mL de agua destilada a una temperatura de 30 °C, 2 g de cristales de fenol y 15 mL de glicerina (Brooks *et al.*, 1963; Johansen, 1940)), extendiéndose el adhesivo a lo largo de todo el portaobjetos.

4.- Antes de que se secase el adhesivo se añadió abundante formalina al 2%. Esta solución acuosa permite que las secciones puedan flotar ligeramente, manejando el material con mayor facilidad.

5.- Mientras tanto las cintas obtenidas con el microtomo rotativo fueron troceadas en pequeñas tiras, teniendo especial cuidado con el orden obtenido. Después se colocaron en los portaobjetos en la misma disposición, evitando la aparición de burbujas entre ellos.

6.- Inmediatamente, se añadió a cada portaobjetos unas gotas de agua entre éste y la placa calefactora, para mejorar la conducción del calor.

7.- Una vez alcanzada la temperatura adecuada se colocaron bien las cintas sobre los portaobjetos con ayuda de dos punzones. Pasados unos minutos, se eliminaron los restos de formalina volcándolos levemente sobre un papel de filtro.

8.- A continuación, se colocaron en bandejas metálicas sobre la superficie de la placa calefactora a 40 °C durante 24 horas tapadas con una caja de cartón. Durante este tiempo las cintas terminaron de estirarse, fijándose a los portaobjetos.

9.- Una vez finalizado el proceso se guardaron en cajas adecuadas para realizar posteriormente las diversas tinciones.

#### **2.1.2.3.6.- Tinción y desparafinado de los cortes obtenidos.-**

Para teñir las muestras obtenidas en el proceso anterior se emplearon dos tinciones diferentes: una de ellas compuesta por ácido tánico, cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), safranina y fast green (verde) (Jensen, 1962) y otra con azul de toluidina (0,05%), descrita por Sakai, 1973.

En las muestras de la campaña 2009 (frutos frescos) se utilizaron las dos tinciones. Sólo se utilizó la segunda tinción en las muestras obtenidas de frutos aderezados de la campaña 2008.

***A.- Ácido tánico, cloruro férrico ( $FeCl_3$ ), safranina y fast green (verde):***

- 1.- Este proceso de tinción comenzó con el desparafinado en xileno mediante dos inmersiones sucesivas de 5 minutos, como mínimo cada una.
- 2.- A continuación, los portaobjetos se introdujeron sucesivamente tres o cuatro veces en una solución de xileno: etanol absoluto (1:1, en volumen).
- 3.- Seguidamente, se realizaron dos inmersiones sucesivas en etanol al 100%, con un mínimo de 3 minutos cada una.
- 4.- Los portaobjetos se sumergieron en sucesivas soluciones de etanol al 95%, 70% y 50%, permaneciendo durante 2 minutos en cada uno de ellos. Con esto se consiguió una hidratación progresiva de las muestras.
- 5.- Después, fueron introducidos en agua destilada durante 2 minutos.
- 6.- A continuación, se procedió a la inmersión en una solución de ácido tánico 1%, durante 10 minutos.
- 7.- Posteriormente, se realizaron tres lavados sucesivos con agua destilada.
- 8.- Se realizó otra inmersión en cloruro férrico ( $FeCl_3$ ) al 2%, durante 5 minutos.
- 9.- De nuevo, se efectuaron tres lavados con agua destilada de forma sucesiva.
- 10.- Seguidamente, se procedió a la inmersión en etanol al 50%, durante 2-3 minutos.
- 11.- Después, se realizó una inmersión en safranina al 1% en etanol, durante 24 horas.
- 12.- Al día siguiente, se comenzó con un lavado suave bajo el grifo hasta eliminar el exceso de tinte, realizándose observaciones bajo el microscopio (**Nikon Labophot TK**). Una vez que los nucleolos estuvieron rojos, se procedió al siguiente paso.
- 13.- Se realizó un lavado de forma sucesiva con etanol al 50%. A continuación, se eliminó la tinción de los portaobjetos con etanol al 70% acidificado (unas gotas de ácido acético concentrado añadido al etanol de 70%), sumergiéndolos varias veces, hasta que se pudieron apreciar los nucleolos bajo el microscopio de un color gris-oscuro.
- 14.- Se eliminaron los restos de tinte en otra solución de etanol al 70%, sumergiéndolos dos o tres veces.
- 15.- A continuación, se llevó a cabo una nueva inmersión en etanol al 95% durante 2 minutos.

16.- Seguidamente, se colocaron los portaobjetos en una solución de fast green (verde), al 0,5% en etanol al 95%, durante 4 segundos, repitiéndose este proceso hasta cuatro veces, dependiendo de las muestras. Una vez concluido este punto fueron de nuevo visibles los nucleolos bajo el microscopio.

17.- Se efectuó una nueva inmersión en etanol al 100% durante 2 minutos.

18.- Se sumergieron sucesivamente tres o cuatro veces en una solución de xileno: etanol absoluto (1:1, en volumen).

19.- Se realizó una inmersión en xileno durante 2-3 minutos.

20.- Se finalizó con dos inmersiones sucesivas en citrosol de 5 minutos cada una.

Para el montaje de los cubreobjetos se procedió de la siguiente manera:

21.- Se añadió unas gotas de adhesivo sintético (Eukitt) a cada uno de los portaobjetos, dejando caer encima un cubreobjetos. Se realizó muy despacio para evitar la aparición de burbujas que impidan su posterior observación al microscopio.

22.- Una vez montadas todas las preparaciones, los portaobjetos se dejaron secar encima de una placa calefactora a 40 °C, con un mínimo de 24 horas y un máximo de tres días.

23.- Pasado este tiempo se retiró el exceso de pegamento (Eukitt) de los portaobjetos con ayuda de una cuchilla desechable y un algodón impregnado en xileno.

24.- Se guardaron, de forma ordenada, en cajas hasta su observación al microscopio.

#### ***B.- Azul de toluidina (0,05%):***

1.- Una vez secos todos los portaobjetos en la placa calefactora, fueron introducidos en una cubeta con azul de toluidina (0,05%) durante 60 minutos.

2.- A continuación, los portaobjetos fueron colocados en otra cubeta con agua para eliminar los restos de tinción, colocándose inmediatamente sobre un papel de filtro para terminar de secarse.

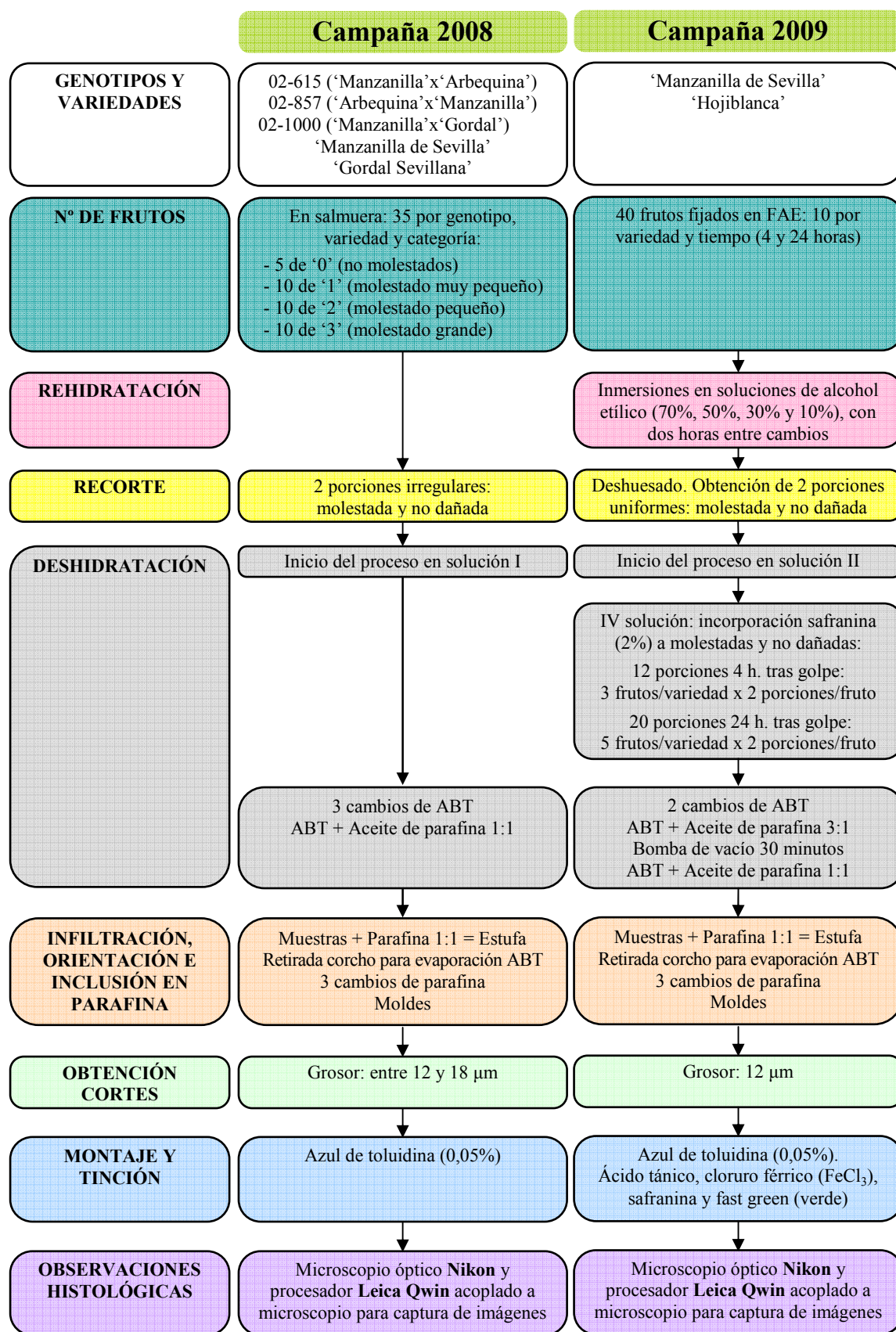
3.- Posteriormente, se efectuaron dos inmersiones sucesivas en citrosol para eliminar los restos de parafina, de 5 minutos cada una.

4.- Terminado el proceso de tinción, se procedió al desparafinado y montaje de los cubreobjetos, siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente para la tinción de ácido tánico, cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), safranina y fast green (verde).

En la figura 35 se describe el proceso histológico seguido por los frutos aderezados y frescos de las campañas 2008 y 2009, respectivamente.



**Figura 35.-** Resumen del proceso histológico seguido por los frutos aderezados y frescos de las campañas 2008 y 2009, respectivamente.



#### **2.1.2.3.7.- Observaciones realizadas.-**

Todas las observaciones histológicas fueron realizadas con un microscopio óptico **Nikon** y un procesador **Leica Qwin** acoplado al microscopio para la captura de imágenes. Este procedimiento consiste en captar imágenes en la pantalla del ordenador y transferirlas luego a un programa de diseño gráfico (por ejemplo, Microsoft PowerPoint), para su impresión en papel.

Las observaciones se realizaron buscando posibles cambios que pudieran presentar las células a lo largo del exocarpo y mesocarpo de la zona dañada por el golpe (*inducido y no inducido*), observando además los tipos de daños producidos en las células de las zonas implicadas.

En cada corte histológico se realizaron visualizaciones desde la epidermis hasta el endocarpo de la zona dañada, anotando todas aquellas anomalías que pudieran presentar las células: cambios de color entre la zona molestada y no dañada, rotura o pérdida de grosor en las zonas afectadas, posibles roturas en la epidermis debido a los golpes recibidos, anchura y profundidad del daño, etc.

Además se anotaron las diferencias encontradas entre los diferentes procedimientos empleados: cortes de diferente grosor realizados en las muestras de los frutos aderezados (campana 2008), diferentes tinciones en las preparaciones de frutos frescos (campana 2009), etc.

En definitiva, se procedió a describir cualitativamente los daños producidos por el molestado en los diferentes frutos y campañas.

#### **2.1.2.4.- Análisis estadístico.-**

Los datos de incidencia de molestado (**I. Mo.**) fueron analizados con el programa informático **StarGraphics Plus V.5.1**. Se han realizado tablas de contingencia entre los valores medios de los diferentes genotipos antes y después del aderezo. Asimismo, se han calculado correlaciones por rangos de Spearman, entre el molestado antes y después del procesado en verde.

### **2.1.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.-**

#### **2.1.3.1.- Puesta a punto de la metodología histológica.-**

##### **Fijación.-**

La fijación de los frutos en el líquido de conservación (FAE) permite retrasar la aparición de posibles alteraciones en las muestras tras la muerte de tejidos y células (Brooks *et al.*, 1963; D'Ambrogio, 1986).

La primera duda que surgió a la hora de poner a punto el procedimiento histológico es si con el tiempo el fijador eliminaría la apreciación del daño o molestado en el fruto, impidiendo la posterior identificación de la zona afectada, necesaria para su estudio. Para ello en el ensayo preliminar (campaña 2009) se estudió el efecto de la fijación en la visualización del molestado de frutos frescos de ‘Manzanilla de Sevilla’ con *golpe inducido* (Figura 36). Los resultados obtenidos revelaron que las manchas en estos frutos fueron visibles en la superficie de los mismos poco después del impacto, manteniéndose después de 4 (Figura 36a) y 24 horas (Figura 36b). Asimismo, se observó que después de una semana (Figura 37a) e incluso pasado un mes (Figura 37b) en FAE, esas manchas permanecían en la superficie de los frutos distinguiéndose con bastante claridad.

**Figura 36.-** Fotografías realizadas a los frutos del cultivar Manzanilla de Sevilla: (a) a las 4 horas y (b) a las 24 horas después del impacto, antes de introducirlos en FAE.



**Figura 37.-** Fotografías realizadas a los frutos del cultivar Manzanilla de Sevilla: (a) a la semana de fijarse con FAE, tras 4 horas del golpe y (b) al mes de fijarse con FAE, tras 24 horas del golpe.



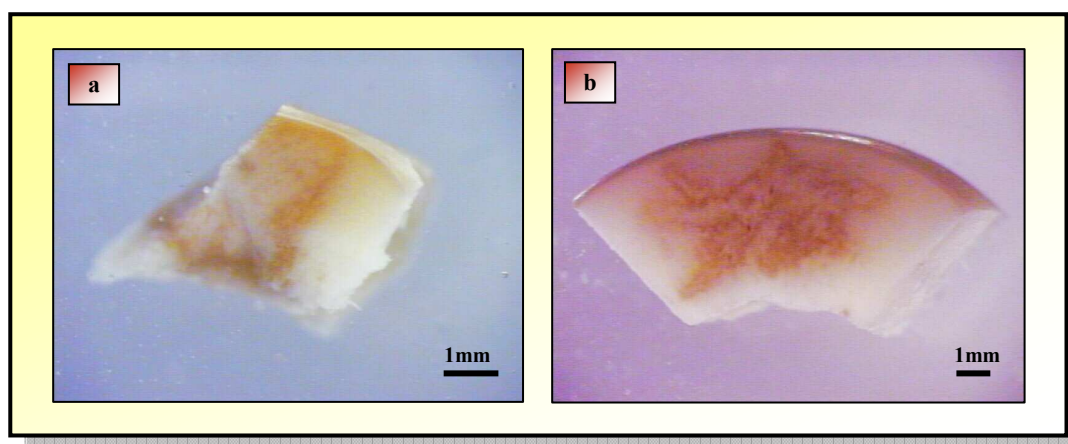
Actualmente las principales variedades empleadas en la industria del encurtido se procesan antes de las 24 horas tras la recolección, para evitar los síntomas del molestado. De ahí que en este trabajo se haya tomado de referencia este tiempo para

evaluar de manera histológica las muestras. La utilización de tiempos inferiores (4 horas tras el impacto) se utilizó para observar la evaluación de los daños entre ambos plazos. Los resultados obtenidos validan la fijación en FAE como procedimiento para conservar frutos molestados hasta su posterior procesamiento histológico para estudiar el daño. De hecho se procedió a fijar de igual manera todos los demás frutos frescos evaluados en este trabajo, utilizando los mismos tiempos (4 y 24 horas).

### **Deshuesado.-**

Durante el proceso de recorte de los frutos aderezados (campaña 2008) se comprobó que los endorcapos dificultaban la extracción de las porciones de fruto, tanto la molestada como la no dañada. De hecho, fue necesario incrementar el número de frutos para obtener un número suficiente de muestras representativas (Figura 38a). Por este motivo, en la campaña 2009 se deshuesaron los frutos, después de una rehidratación en inmersiones consecutivas de alcohol etílico (ver apartado 2.1.2.3.1.2.). Con los cortes transversales realizados después en el mesocarpo de los frutos se facilitó la obtención de las rodajas. Una vez obtenidas éstas, resultó más fácil conseguir y delimitar la zona molestada y no dañada para su posterior proceso histológico (Figuras 32 y 38b).

**Figura 38.-** Porción molestada del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, donde se puede apreciar la forma irregular de la muestra obtenida de frutos sin deshuesar (**a**). Porción molestada de 'Manzanilla de Sevilla' de la campaña 2009, tras 4 horas desde el impacto, donde la zona dañada resultó más fácil de obtener y delimitar obtenida de frutos deshuesados (**b**). En todas las imágenes, el exterior del fruto esta hacia arriba y el mesocarpo interior (donde toca al endocarpo) esta abajo.

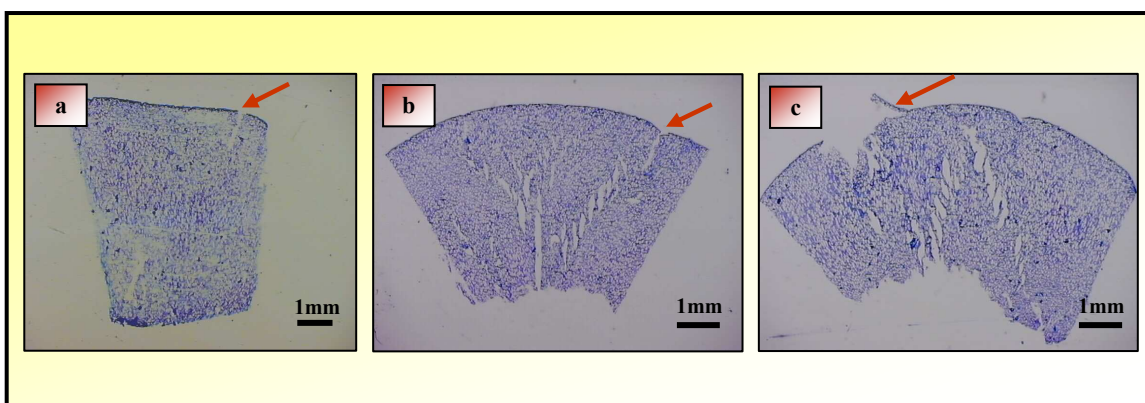


### Muestras en la epidermis.-

En las dos campañas estudiadas, se realizaron muescas en parte de la periferia de las manchas para delimitar mejor y visualizar posteriormente la zona dañada en los cortes histológicos.

Si bien en algunos cortes, donde se visualizaban ambas muescas delimitando perfectamente la zona dañada, se facilitó la observación con el microscopio, en la mayoría de los casos no resultaron de utilidad, ya que no se podía apreciar ninguna de las incisiones realizadas o sólo alguna de ellas (Figuras 39a y 39b). En otros casos, las muescas eran demasiado profundas, produciendo una gran rotura en la cutícula de la zona en cuestión (Figura 39c). Además, al ser la mayoría de ellas incisiones superficiales sólo se apreciaban en los primeros cortes seriados realizados. Por tanto, se concluyó que la utilización de esta técnica no resulta de interés para delimitar y visualizar la zona dañada por el golpe en los cortes histológicos.

**Figura 39.-** Cortes histológicos del genotipo 02-1000 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Gordal Sevillana') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molestado pequeño) (a) y de la variedad Manzanilla de Sevilla (campaña 2009), tras 24 horas del impacto (b). En ambos cortes se puede observar las incisiones (→) realizadas en la cutícula (a la derecha del corte) de la zona dañada por el golpe. Corte histológico del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, a las 24 horas del impacto con una incisión demasiado intensa en su cutícula (a la izquierda del corte) (c).



### Safranina durante la deshidratación.-

En la campaña 2009, una vez conseguidas ambas porciones a partir del recorte de los frutos (zona molestada y zona no dañada), se realizó en algunas de las muestras una incorporación de safranina en el IV paso de la deshidratación. Este colorante se añadió tanto a las porciones molestadas como a las no dañadas de cada uno de los frutos seleccionados. El objeto fue facilitar la orientación y visualización de la porción

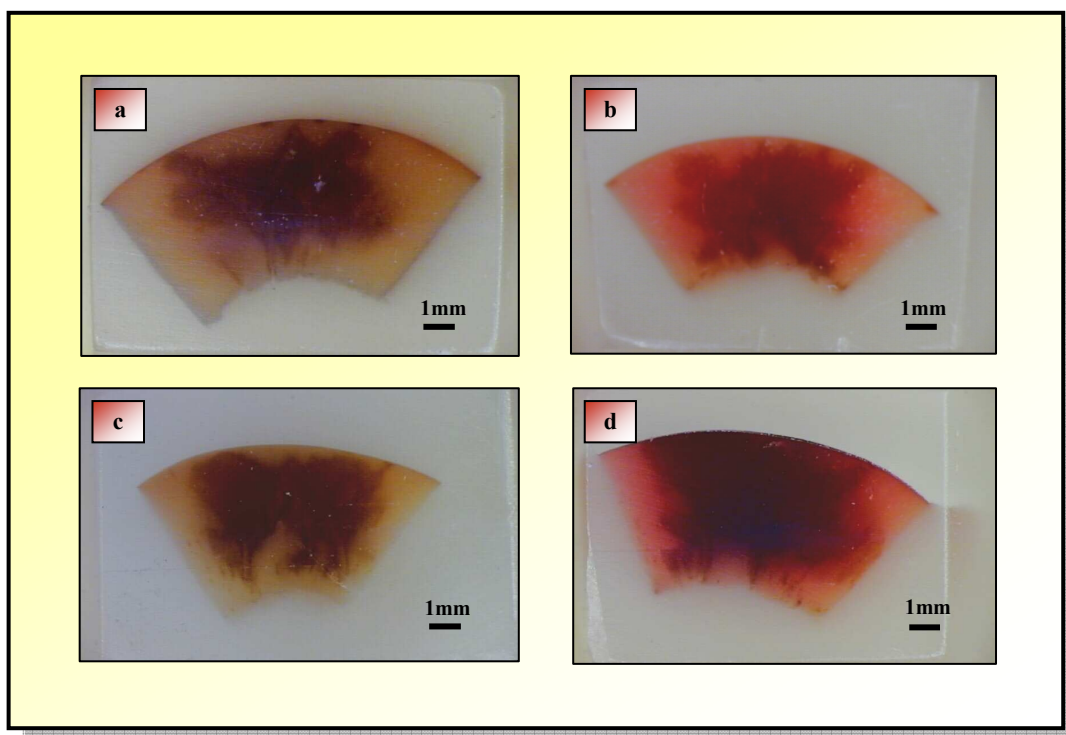


molestada en los moldes metálicos durante la inclusión en parafina, y poder delimitar después la zona dañada en los cortes histológicos correspondientes.

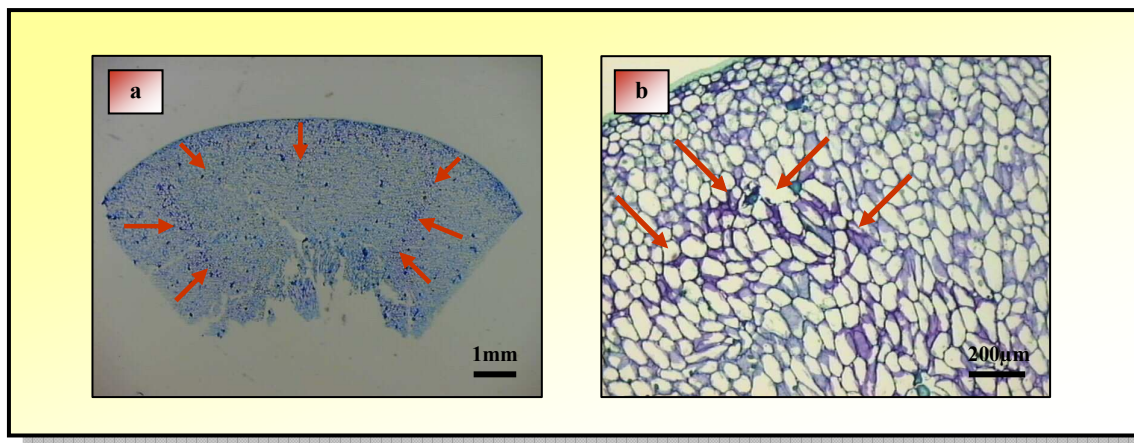
En el primero de los casos (visualización del daño antes de la inclusión en parafina), la safranina no resultó de utilidad, puesto que la zona dañada se apreciaba a simple vista sin necesidad de dicha tinción. Para ambos cultivares y horas tras el golpe, la zona molestada fue perfectamente visualizada tanto con safranina como sin ella (Figura 40).

Por el contrario, resultó más interesante en la observación bajo microscopio de los cortes histológicos. En alguno de ellos, se pudo observar que las células que delimitaban el borde exterior de la zona molestada presentaban un color más intenso (Figura 41a). Una vez finalizada la tinción correspondiente, estas aparecían más coloreadas (Figura 41b), delimitando perfectamente la zona dañada por el golpe. Sin embargo, estos resultados sólo se obtuvieron para la tinción de azul de toluidina al 0,05% y para el cultivar Hojiblanca, tras 4 horas del golpe.

**Figura 40.-** Zonas molestadas de diferentes frutos frescos (sin aderezar) de ‘Manzanilla de Sevilla’ (a y b) y ‘Hojiblanca’ (c y d) de la campaña 2009 incluidas en los moldes de parafina, tras 4 (a y b) y 24 horas (c y d) del impacto. Las porciones con safranina (b y d) introducida en el paso IV de la deshidratación, se pudieron visualizar exactamente igual que aquellas donde no ha sido añadida (a y c).



**Figura 41.-** Cortes histológicos de la variedad Hojiblanca de la campaña 2009, tras 4 horas del impacto y después de la incorporación de safranina en el paso IV de la deshidratación. En ellos se puede visualizar el contorno de la zona dañada (a), gracias a la presencia de células más coloreadas (→) (b).

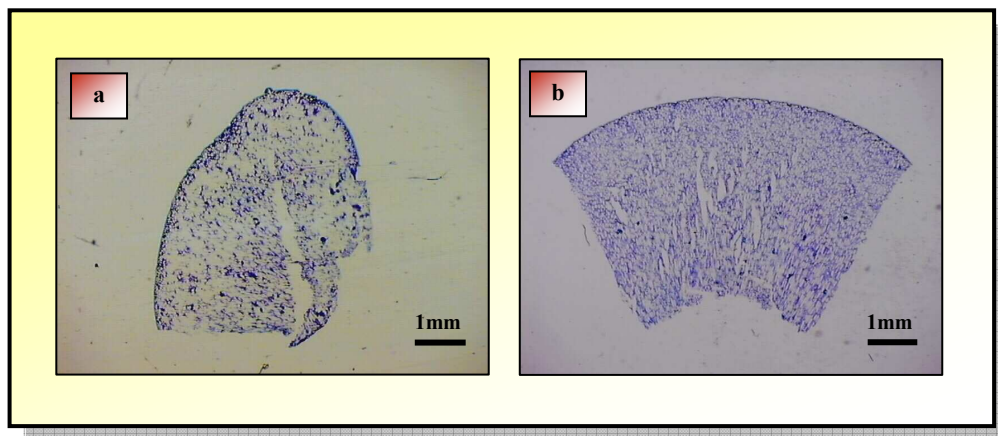


#### Orientación de las muestras.-

Durante el proceso histológico de los frutos aderezados (campaña 2008), uno de los inconvenientes presentados fue la dificultad de orientar las porciones obtenidas (molestada y no dañada) en los moldes metálicos empleados para tal fin. Tanto la zona molestada como la no dañada (*molestado no inducido*) no eran regulares en cuanto a su forma (Figura 38a), presentando serias dificultades en lo referente a la orientación en dichos moldes. Como ya se comentó anteriormente en el proceso de recorte, para los frutos de la siguiente campaña (2009) esta dificultad se solventó con la obtención de porciones más homogéneas mediante el deshuesado (Figura 38b). Además, la puesta a punto de la técnica (deshuesado, recorte y orientación) realizada a los frutos seleccionados de la campaña 2009 resultó de gran utilidad.

El corte más estrecho realizado a la zona no dañada (Figura 32), también facilitó la diferenciación y orientación de ambas zonas en los moldes metálicos. De esta forma, la visualización de la zona molestada y no dañada en los cortes histológicos, permitió visualizar con más claridad las diferentes partes del fruto (exocarpo, mesocarpo y parte exterior del endocarpo) (Figura 42b), con respecto a los cortes obtenidos en la campaña 2008 (Figura 42a).

**Figura 42.-** Cortes histológicos del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molestado pequeño) **(a)** y del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, tras 24 horas del impacto **(b)**, donde se puede apreciar la falta de homogeneidad entre ambos cortes.



### Grosor de los cortes.-

Uno de los problemas que se presentó durante el proceso de corte con el microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) fue la presencia de cristales de sal ( $\text{NaCl}$ ) en las muestras que procedían de frutos aderezados y conservados en salmuera (campaña 2008). Este hecho provocó la rotura notable de células en determinadas zonas, tanto en las molestadas como en las no dañadas, obteniéndose cortes seriados de mala calidad (Figuras 43b y 43c). Los cortes realizados con un grosor de  $12\text{ }\mu\text{m}$  aparecieron arañados a causa de los cristales de sal (Figura 43a). Este problema se solventó aumentando el grosor de los cortes a  $16$  ó  $18\text{ }\mu\text{m}$ , dependiendo de las muestras (Figura 44a).

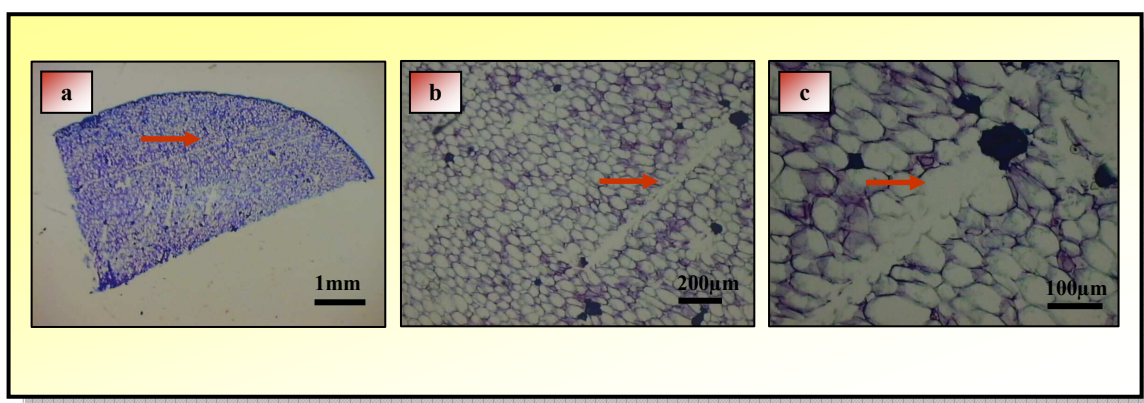
Aunque el aumento del grosor permitió buenos cortes (Figura 44a), tuvo implicaciones en la visualizaciones posteriores de los tejidos. Con cortes seriados de mayor grosor, los cristales de sal siguieron presentes en las muestras, por lo que interfirieron en la observación de posibles daños que pudieron aparecer en los tejidos de las zonas molestadas. Por lo tanto, aunque se obtuvieron cortes óptimos y se solventó el problema de cortes seriados defectuosos, esta técnica no resultó adecuada para la observación de los daños en las muestras aderezadas. Sería necesario eliminar previamente los cristales de sal, para visualizar posteriormente los daños en las zonas molestadas.

El grosor óptimo de los cortes está relacionado con la claridad de las estructuras a observar, su tamaño y el de las células o tejidos donde se localizan, y la factibilidad del corte (Sass, 1958).

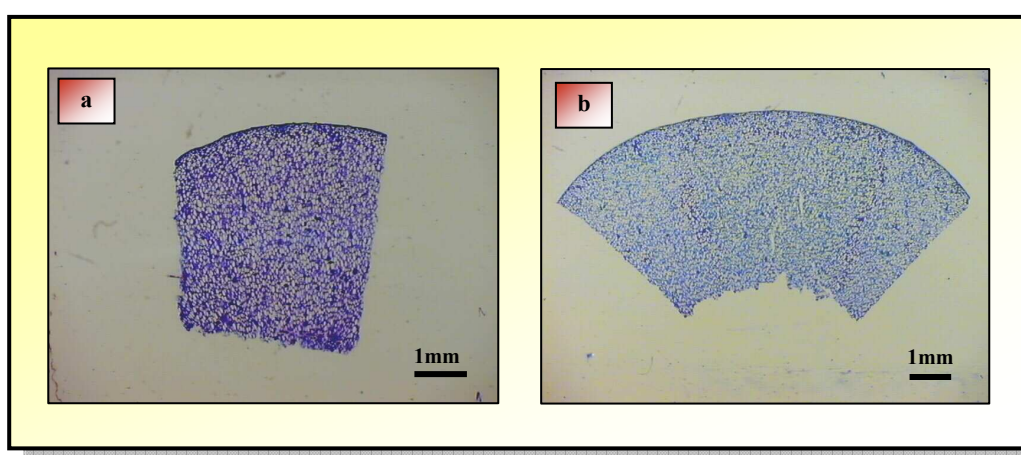


Por el contrario, en los bloques de parafina obtenidos de las muestras de la campaña 2009, al no estar aderezados las observaciones fueron realizadas sin ningún tipo de problemas con un grosor menor: 12  $\mu\text{m}$  (Figura 44b).

**Figura 43.-** Cortes histológicos del genotipo 02-857 ('Arbequina' x 'Manzanilla de Sevilla') de la campaña 2008, categoría 2 (Frutos con molesto pequeño) realizadas con el microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) y con un grosor de 12  $\mu\text{m}$ . Los cristales de sal originados en el proceso de aderezo (→), ocasionaron un deterioro en los cortes seriados obtenidos (**a**, **b** y **c**).



**Figura 44.-** Corte histológico del genotipo 02-615 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Arbequina') de la campaña 2008, categoría 0 (Frutos sin molesto) realizadas con el microtomo rotativo (**Reichert Histostat 820, Rotary Microtome**) y con un grosor de 18  $\mu\text{m}$  (**a**). Corte histológico del cultivar Hojiblanca de la campaña 2009, tras 4 horas del impacto, con safranina en el IV paso de la deshidratación y realizadas con un grosor de 12  $\mu\text{m}$  (**b**). En ambos cortes histológicos se puede apreciar la óptima calidad de los mismos.



#### Endurecimiento de la parafina.-

Antes de realizar los cortes con el microtomo rotativo, se procedió a endurecer los bloques individuales de parafina con las muestras incluidas (en los moldes de inclusión), con el objeto de obtener cortes seriados óptimos. De los dos métodos

utilizados en la campaña 2008 y descritos en el apartado 2.1.2.3.4., los mejores resultados se obtuvieron con la introducción de los bloques durante 24 horas a una temperatura de -20 °C. Con la colocación de estos moldes a esas temperaturas y con el aumento de grosor ya comentados, se facilitó los cortes con el microtomo rotativo, no produciéndose casi ninguna rotura por cristales de sal (Figura 44a).

Para los bloques individuales de parafina que contenían muestras de los cultivares de Manzanilla de Sevilla y Hojiblanca de la campaña 2009, se procedió a utilizar dicho protocolo obteniéndose cortes seriados de buena calidad (Figura 44b).

La otra alternativa empleada, consistente en la introducción de los bloques individuales de parafina en agua y hielo durante 3 horas y colocados previamente a la misma temperatura y tiempo del método anterior, también endureció la parafina por bajas temperaturas y penetración del agua (Da Silva, 2006; Murad, 2002; Rallo, 1994b; Salmerón, 1983). De esta forma, los tejidos adquirieron un mayor apoyo estructural facilitando la realización de los cortes.

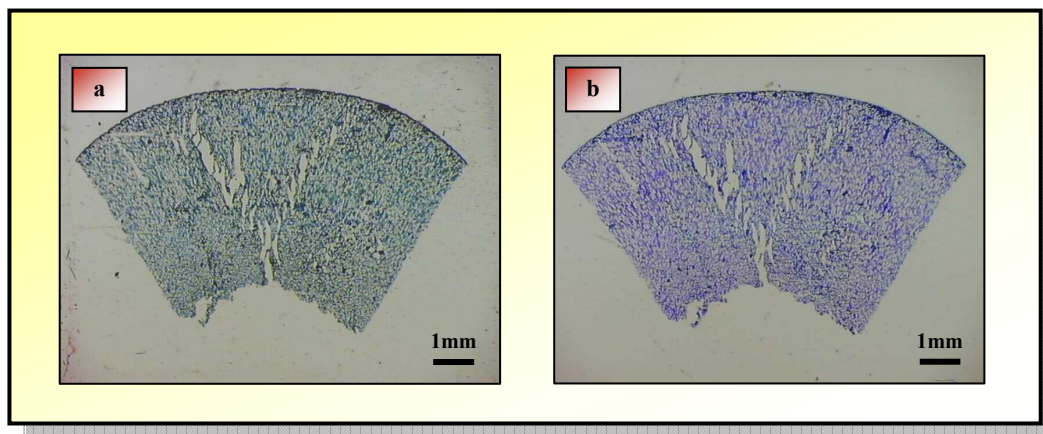
Como los resultados fueron similares con ambos métodos, se eligió el primero de ellos, reduciendo así el tiempo empleado en el protocolo de recorte de los bloques.

### **Tinciones.-**

En relación a las dos tinciones empleadas en el proceso histológico (campaña 2009), se observaron los mismos resultados en ambas (Figura 45). La primera de ellas, con ácido tánico, cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), safranina y fast green (verde) (Jensen, 1962), presentaba la dificultad de utilizar safranina. Este colorante requería especial atención para que los tejidos no resultasen confusamente teñidos o que desapareciera en una gran cantidad, palideciendo las secciones. Además, eran necesarios dos días consecutivos para su ejecución, realizando diferentes observaciones con el microscopio para comprobar la tinción (Figura 45a).

Por este motivo y al obtenerse los mismos resultados que con el azul de toluidina (0,05%) durante 60 minutos (Figura 45b) se decidió utilizar esta última tinción en las preparaciones de la campaña 2009.

**Figura 45.-** Cortes histológicos del cultivar Manzanilla de Sevilla de la campaña 2009, tras 24 horas del impacto y después de las tinciones realizadas en el proceso histológico: (a) tinción ácido tánico, cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), safranina y fast green (verde) y (b) tinción de azul de toluidina (0,05%) durante 60 minutos. Se puede apreciar que los resultados entre ambas tinciones son similares.



### 2.1.3.2.- Descripción cualitativa preliminar de los daños por moleestado en los frutos sin aderezar y aderezados.-

#### 2.1.3.2.1.- Daño externo en fruto entero.-

En los frutos que se sometieron a *moleestado inducido*, la aparición de manchas en la superficie de los frutos ocurrió a los pocos minutos del golpe. La comparación de las fotografías realizadas a las 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 24 horas del golpe, pone de manifiesto que en todos los genotipos estudiados se produjo, con el tiempo, un incremento en la intensidad de color de las zonas dañadas, si bien no se observó un aumento en el área de las mismas (Figura 46). En definitiva, el daño fue visible poco después del impacto, haciéndose más evidente con el paso del tiempo por un incremento en la tonalidad de la mancha pero no por un incremento en el tamaño.

Estas manchas superficiales aparecidas en los frutos, incluso apreciables en recolección mecanizada a los 30 minutos del golpe (Castro-García *et al.*, 2010), es una de las principales causas de rechazo por parte del consumidor (Riquelme *et al.*, 2008). Esto coincide con investigaciones realizadas por Pastor *et al.*, (1979), en las que al dejar reposar aceitunas que habían recibido un golpe, se producía un oscurecimiento del color verde superficial.

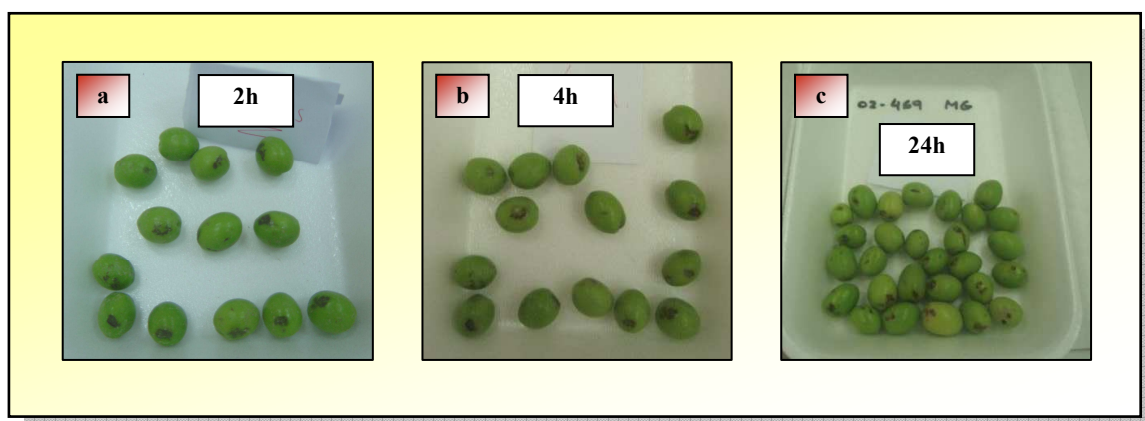
El tamaño de los frutos, su estado de madurez, forma de recolección (Castro-García *et al.*, 2010), energía de impacto y variedad (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2012) son factores importantes que influyen en la susceptibilidad de los frutos al moleestado.

Este oscurecimiento parece ser consecuencia de los procesos bioquímicos y metabólicos desencadenados tras el golpe recibido. Estudios llevados a cabo en ‘Manzanilla de Sevilla’, ponen de manifiesto el mecanismo de reacción del moleestado, describiéndose

las enzimas y fenoles que intervienen en el proceso de pardeamiento de los frutos (García-García *et al.*, 2010). La Polifenoloxidasa (PPO) es la principal enzima causante de este pardeamiento en los frutos (Segovia-Bravo *et al.*, 2009), cataliza la reacción que transforma los o-difenoles en o-diquinonas (Dogan y Dogan, 2004), formando compuestos coloreados (Matheis, 1983).

La concentración de sustancias polifenólicas y enzimas oxidativas (peroxidasas (POD) y polifenoloxidasas (PPO)) se ha determinado en pulpa de aceitunas frescas, mediante cromatografía y espectrofotometría (Ramírez *et al.*, 2012). ‘Manzanilla de Sevilla’, más propensa a los golpes, presenta una mayor actividad para las enzimas oxidativas mencionadas. En el caso de la actividad PPO, ‘Gordal Sevillana’ no difiere significativamente de ‘Manzanilla de Sevilla’ y ambas tienen mayor actividad que ‘Hojiblanca’.

**Figura 46.-** Fotografías de las manchas producidas por los golpes (*molestado inducido*) de los frutos frescos (sin aderezar) de ‘Manzanilla de Sevilla’ a diferentes horas: dos horas (a), cuatro horas (b) y para el genotipo 02-469 (‘Manzanilla libre’) a las 24 horas tras el golpe (c).



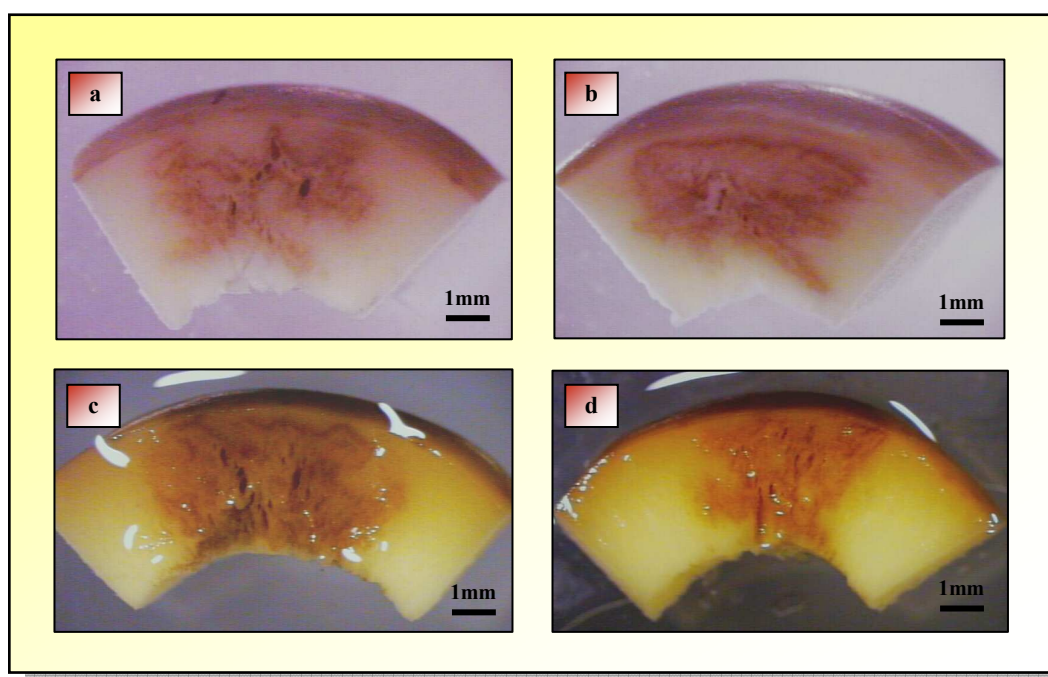
Por otro lado, la visualización del daño externo por *molestado no inducido* en frutos aderezados se vio dificultada por el propio proceso de aderezo estilo “verde español”, ya que las manchas superficiales son disimuladas por la acidez generada durante la fermentación, que detiene los procesos oxidativos responsables del pardeamiento en los frutos (Morales *et al.*, 2007).

#### 2.1.3.2.2.- Daño observado en las porciones de frutos fijados antes de su procesado en parafina.-

Cuando se realizó el recorte para obtener porciones de frutos con molestado para su subsiguiente procesado en parafina, se pudo comprobar que se apreciaba fácilmente el daño interno en la pulpa de la aceituna, evidenciado por zonas irregulares con coloración más oscura (Figura 47). Esta coloración diferencial se observó desde la

epidermis y a lo largo del mesocarpo, llegando incluso en algunas porciones a la parte exterior del endocarpo (Figuras 47c y 47d), y se apreció tanto en frutos aderezados con *molestado no inducido* (campaña 2008), como en frutos frescos con *molestado inducido* (campaña 2009). En estos últimos además, se pudieron observar ruptura del tejido (presencia de huecos) en el mesocarpo (Figura 47). En general, el área afectada, la intensidad de color y el tamaño aparente de los huecos fue mayor en ‘Manzanilla de Sevilla’ (Figuras 47a y 47c) que en ‘Hojiblanca’ (Figuras 47b y 47d), y mayor también en frutos fijados a las 24 h (Figuras 47c y 47d), que a las 4 horas del golpe (Figuras 47a y 47b).

**Figura 47.-** Porciones obtenidas en el proceso de recorte de ‘Manzanilla de Sevilla’ (a y c) y ‘Hojiblanca’ (b y d) de la campaña 2009, tras 4 (a y b) y 24 (c y d) horas del golpe (*molestado inducido*). Para ambas variedades y tiempos, se pudo observar huecos y una coloración más oscura en las zonas dañadas. ‘Manzanilla de Sevilla’ fue la que presentó una mayor coloración y tamaño de huecos que ‘Hojiblanca’, tanto a las 4 (a) como a las 24 horas (c) del golpe.



Este oscurecimiento, que se produce tanto en la superficie como hacia el interior, a lo largo del mesocarpo de los frutos, parece ser consecuencia del impacto físico (golpe) sufrido por los frutos, que desencadena una reacción enzimática causante de dichas manchas.

Así, a las 24 horas los procesos oxidativos desencadenados a continuación del golpe tendrían más tiempo para desarrollarse, produciendo una intensidad de color más marcada, tanto en la parte superficial como a lo largo del mesocarpo de los frutos. Por lo



tanto el tiempo de espera desde que se produce el golpe, hasta su procesamiento por la industria, debería ser mínimo. Cuanto menos tiempo dejemos actuar a esas enzimas, se producirá una menor intensidad de color en las zonas dañadas por el golpe, mejorando así la calidad final del producto.

Samim y Banks (1993) evaluaron en manzanas los cambios de color (mediante colorímetro) en función del tiempo tras un impacto inducido. La mayor parte de los cambios de color en la zona dañada tiene lugar tras las primeras horas del impacto, con un máximo de intensidad entre las 10 y 20 horas tras el golpe. Los tejidos afectados se oscurecen rápidamente, adquiriendo un color marrón e incrementándose la intensidad de este, como resultado de la oxidación fenólica, ruptura celular y la pérdida de agua en los tejidos.

Otros autores (Dobrzański y Rybczyński, 2002) estudiaron este mismo fenómeno en cultivares de manzana que presentan variación de tonalidad en su exterior ('Jonagold' y 'Champion'). Los frutos fueron dañados en dos zonas opuestas y se analizaron mediante un colorímetro. En las zonas afectadas se observó un oscurecimiento progresivo y un incremento en el brillo con el tiempo, especialmente durante los cinco primeros días tras el impacto.

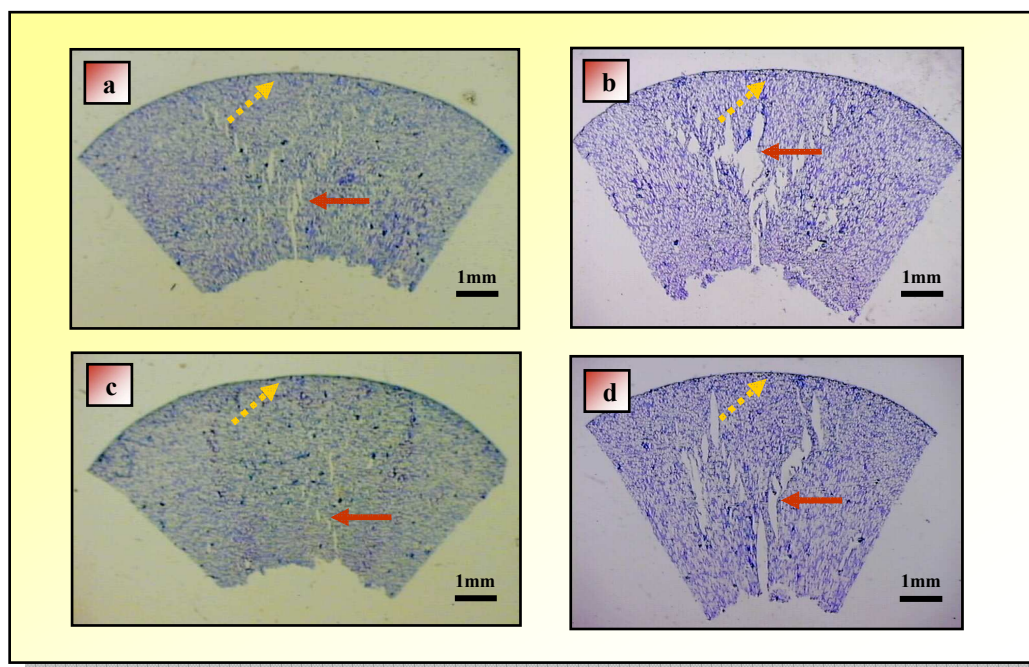
#### 2.1.3.2.3.- Daño en las preparaciones histológicas.-

En las preparaciones histológicas de los frutos frescos (sin aderezar) con *molesto inducido* (campana 2009), se observó en las zonas dañadas por el golpe una ruptura celular (presencia de huecos), tal y como se había constatado en las porciones fijadas (Figura 47), observándose diferencias histológicas entre variedades y tiempos analizados (Figura 48).

Estos daños físicos (huecos), localizados a lo largo del mesocarpo del fruto en ambas variedades y para los diferentes tiempos, fueron más visibles después de 24 horas (Figuras 48b y 48d). A las 4 horas después del impacto, se visualizaron también esas rupturas celulares, en ambas variedades, pero aparentemente en menor número y de menor tamaño en los frutos de la variedad Hojiblanca (Figuras 48a y 48c).

Para las dos variedades y tiempos, se observó que los huecos no llegaban a afectar a la epidermis, sino que se localizaban siempre hacia el interior del fruto.

**Figura 48.-** Cortes histológicos de frutos frescos (sin aderezar) de ‘Manzanilla de Sevilla’ a 4 (a) y 24 horas tras el impacto (b) y de ‘Hojiblanca’ a 4 (c) y 24 horas tras el golpe (d). Se puede apreciar la presencia de huecos (←) a lo largo del mesocarpo, siempre hacia el interior de la epidermis, sin afectarla directamente (.....→), llegando incluso a veces al endocarpo de los frutos.

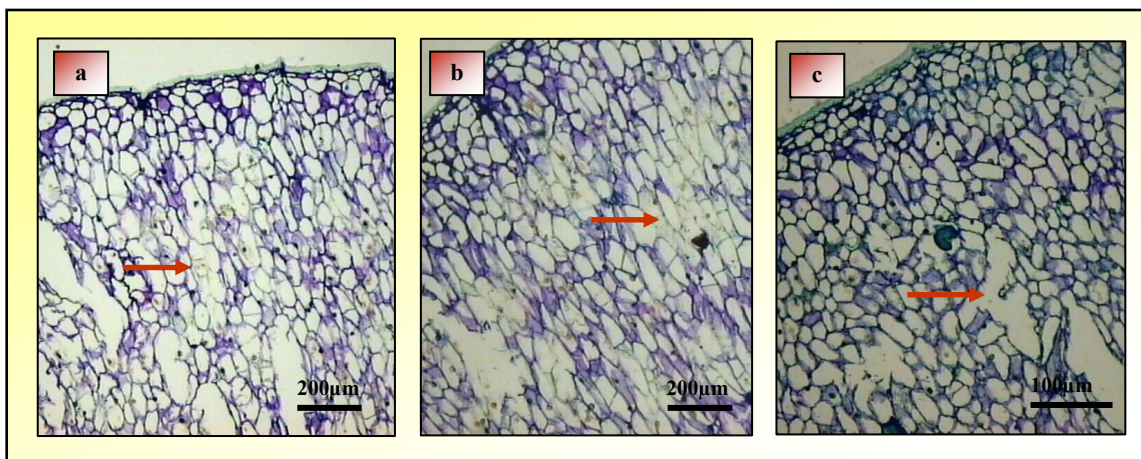


Nuestros resultados coinciden en parte con las investigaciones realizadas por Mitsuhashi-Gonzalez *et al.* (2010) en manzana, mediante microscopía electrónica. Los resultados de este trabajo indican que los daños por *molestado inducido* se producen en el interior de los frutos. La epidermis, colénquima e hipodermis, a pesar de ser capas exteriores, aparecen sin daños o ligeramente compactadas. Estas zonas son más resistentes, debido a las características de las células que los componen: irregularmente engrosadas y ricas en pectina (Taiz y Zeiger, 2002).

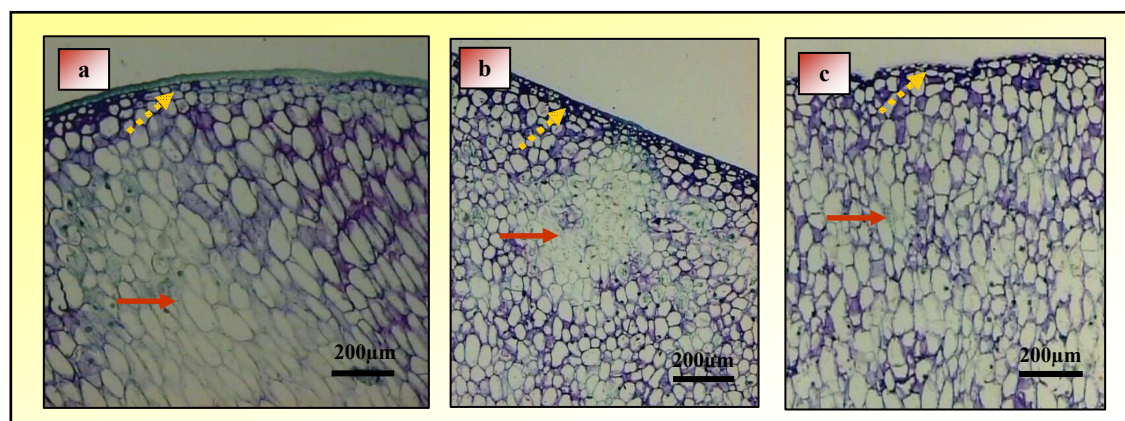
Mitsuhashi-Gonzalez *et al.* (2010) observaron además, que en la parte interna, concretamente en el parénquima, fue donde aparecieron las grietas (espacios intercelulares). En las zonas donde existían mayores espacios intercelulares se localizaron una gran cantidad de células muertas o aplastadas, transmitiéndose el daño a las células adyacentes.

En nuestro estudio, además de la ruptura celular, se visualizó en ambas variedades y sólo a las 24 horas tras impacto estandarizado una disminución del grosor en las paredes celulares en áreas concretas de las zonas molestadas (Figura 49). Al igual que ocurría con los huecos, la pérdida de grosor de las paredes siempre se visualizó hacia el interior del mesocarpo, sin afectar a la epidermis (Figura 50).

**Figura 49.-** Cortes histológicos de porciones molestadas de los cultivares Manzanilla de Sevilla y Hojiblanca de la campaña 2009: (a) detalle de la pérdida de grosor de la pared celular en ‘Manzanilla de Sevilla’ (→), tras 24 horas del impacto, (b) detalle de la pérdida de grosor de la pared celular en ‘Hojiblanca’ (→), tras 24 horas del impacto y (c) ‘Manzanilla de Sevilla’ tras 4 horas del impacto, dónde se puede apreciar solo la presencia de huecos (→) sin la pérdida de grosor en las paredes de la zona dañada.



**Figura 50.-** Cortes histológicos de porciones molestadas: (a) del genotipo 02-625, categoría 2 (frutos molestado pequeño) de la campaña 2008, con un grosor de 18µm, (b) ‘Manzanilla de Sevilla’, categoría 2 (frutos molestado pequeño) de la campaña 2008, con grosor de 12 µm y (c) ‘Manzanilla de Sevilla’ de la campaña 2009, tras 24 horas desde el impacto y con un grosor de 12 µm. En todos los cortes se pueden visualizar que las células modificadas de la zona dañada por el golpe (*molestado no inducido* e *inducido*, respectivamente) no llegaban a afectar a la epidermis (→), sino que se encontraban siempre debajo de esta hacia el interior de los cortes (→).

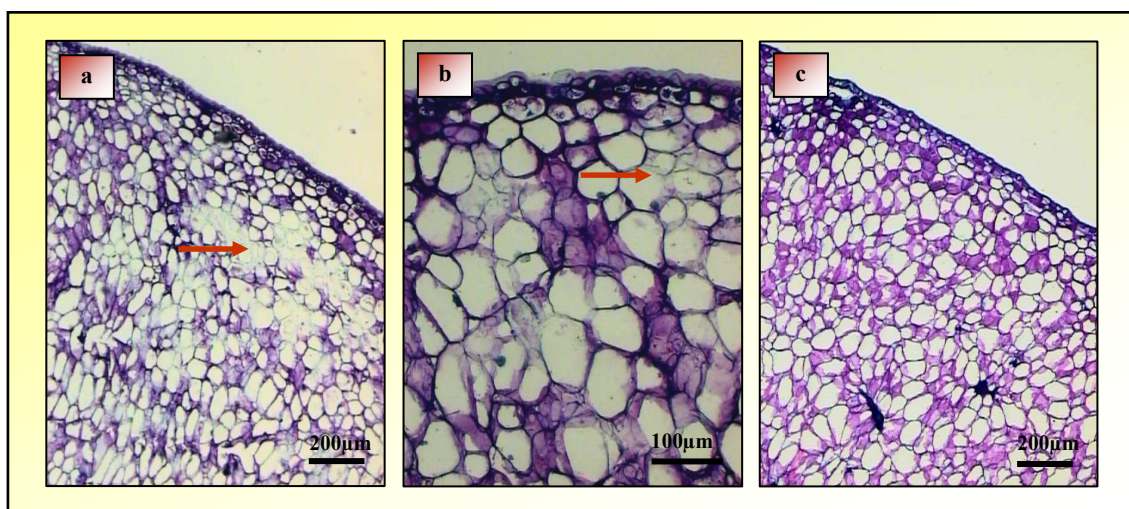


Por otro lado, en las preparaciones histológicas de frutos aderezados con *molestado no inducido* (campaña 2008) la presencia de sales dificultó notablemente el proceso de corte con microtomo, provocando la rotura de células, que se solventó incrementando el grosor del corte. En todos los genotipos de dicha campaña se visualizó pérdida de grosor en las paredes celulares de las zonas molestadas, siendo más evidentes en ‘Manzanilla de Sevilla’ y en el genotipo 02-1000 (‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal



Sevillana') (Figura 51). De nuevo, se observó que la zona afectada por esta pérdida de grosor no llegaba a incluir la epidermis, sino que se situaba debajo de la misma y siempre hacia el interior de los cortes.

**Figura 51.-** Cortes histológicos de porciones molestadas y no dañadas del genotipo 02-1000 ('Manzanilla de Sevilla' x 'Gordal Sevillana') de la campaña 2008, categoría 3 (frutos molestado grande) y con un grosor de 18 $\mu$ m: (a) se puede apreciar zonas con paredes celulares más delgadas (→), (b) detalle de la pérdida de grosor (→) de la pared celular y (c) corte histológico de una zona no dañada.



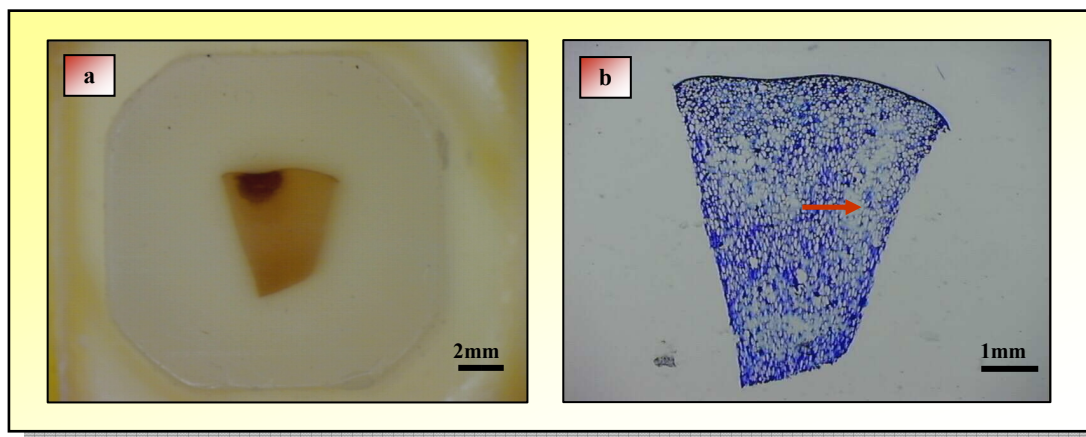
El tiempo transcurrido desde la recolección de los frutos (campaña 2008) hasta su proceso de elaboración (verde “estilo español”) fue aproximadamente de 24 horas, que es el tiempo máximo recomendado por la industria del aderezo para variedades como ‘Manzanilla de Sevilla’ antes de ser procesada. Por lo tanto, la pérdida de grosor en las paredes celulares encontrada en las células de las zonas dañadas, es probablemente la que tenía el fruto 24 horas después de los golpes derivados de la recolección (*molestado no inducido*), ya que el aderezo paraliza, al igual que el FAE, los procesos de daño a los frutos. Estos resultados demostrarían que los daños celulares si permanecen después del proceso de aderezo, aunque el color de la mancha en la epidermis apenas se visualice. Es decir, el procesado industrial que se ha utilizado puede reducir los síntomas exteriores del molestado, pero no eliminarlos totalmente.

Además, la pérdida de grosor de las paredes celulares observada en las zonas dañadas de los frutos aderezados (campaña 2008) fue más intensa que la de los cortes histológicos de la campaña 2009, en la que los frutos no estaban aderezados. Investigaciones en aceituna de mesa, han revelado que concentraciones altas de lejía en el proceso de cocido (3%), ocasionan una pérdida de integridad en la pared celular, provocando una merma de firmeza en la textura de la pulpa (Marsilio *et al.*, 1996). La

concentración de lejía fue más significativa que la duración del tratamiento en la destrucción de la estructura de los tejidos. Estos resultados podrían indicar que el proceso de aderezo puede influir de forma negativa en aquellos frutos que hayan sufrido un golpe, produciéndose una mayor pérdida de grosor en las paredes celulares de las zonas implicadas. En definitiva, esta disminución podría afectar a la textura de los frutos, provocando una merma en la calidad final. La textura, o firmeza del fruto, se ve afectada significativamente durante la fase de cocido con lejía y su posterior proceso industrial (Maldonado *et al.*, 2011).

Rejano *et al.* (2008) demostraron que un incremento en la concentración de lejía (2,4%) provoca una disminución de la textura en aceitunas aderezadas con *molestado inducido*. El proceso de aderezo llevado a cabo en los frutos de 2008 podría explicar en parte la aparición de células dañadas con menor grosor en las paredes celulares, fuera de la zona oscura provocada por el *golpe no inducido*, en dos de las muestras aderezadas (Figura 52).

**Figura 52.-** Porción molestada del genotipo 02-1000 (‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’) con categoría 2 (frutos molestado pequeño) incluida en el molde individual de parafina (a) y su correspondiente corte histológico (b). En este último, se pudo apreciar zonas con pérdida de grosor en las paredes celulares (→) fuera de la zona molestada (coloración más intensa) provocada por el golpe (*molestado no inducido*).



El efecto de la lejía sobre la estructura de las paredes celulares se ha estudiado mediante microscopía electrónica en otros vegetales como el pimiento jalapeño (*Capsicum annum* L. cv. *truhart*) (Floros *et al.*, 1987). También, mediante esta técnica, se ha estudiado en olivo los cambios estructurales antes y después de la fermentación natural (sin tratamiento previo con lejía) (Servili *et al.*, 2008). Después de la fermentación se produce una degradación del epicarpo y los tejidos internos aparecen dañados. En

cambio, no se producen alteraciones en las paredes celulares ni en la separación intercelular (laminilla media) en el mesocarpo de los frutos.

En definitiva, en los estudios actuales la pérdida de grosor de las paredes celulares ha resultado ser la alteración anatómica más frecuente vinculada al fenómeno del moleestado ya que se ha observado en todos los frutos a las 24 horas del daño, independientemente del origen del golpe recibido (*moleestado no inducido* en 2008 e *inducido* en 2009). Sin embargo, la aparición de huecos o roturas celulares sólo se ha observado en muestras con *moleestado inducido*, lo que hace suponer que el daño por el golpe estandarizado sea mayor que el que tiene lugar de forma natural durante la recolección manual. De esta manera, hemos podido establecer como la forma de provocar el golpe a los frutos (*inducido* y *no inducido*) afecta de manera diferente a los cambios físicos observados bajo el microscopio.

Por el contrario, los cambios bioquímicos (coloración más intensa) aparecidos en las zonas dañadas como consecuencia de los golpes son iguales, independientemente de la forma de provocarlos (*moleestado inducido* y *no inducido*).

En este sentido, la reducción de las paredes celulares también podría ser debida a cambios bioquímicos y metabólicos desarrollados durante el proceso de oxidación anteriormente mencionado. A medida que avanza el tiempo (24 horas), esos procesos se desarrollan con más intensidad. El resultado es una maduración localizada, que provoca cambios en la estructura celular (disminución en el grosor de las paredes celulares de la zona dañada) y un aumento de la coloración (cambios bioquímicos)), afectando probablemente a la textura y, en definitiva, depreciando el producto final. La estructura celular tiene cierta influencia en la firmeza de la textura de los tejidos de la aceituna (Marsilio *et al.*, 1996). La pérdida estructural favorece el avance acelerado de los procesos enzimáticos (coloración de la zona dañada), contribuyendo de forma negativa al color, textura y posiblemente al sabor de las aceitunas. Una vez que las paredes celulares pierden su integridad, el proceso enzimático avanza mucho más rápidamente (Martínez y Whitaker, 1995).

En frutales, la formación de etileno está asociada al fenómeno de la maduración y senescencia de los tejidos del fruto. Investigaciones realizadas por Liu *et al.*, 2010, indican que el ablandamiento en melocotón es causado por un aumento temprano de etileno. La presencia de este compuesto junto con el daño mecánico estimula el metabolismo de compuestos fenólicos (Hyodo *et al.*, 1978), responsables del oscurecimiento de la zona molestada. Knee y Miller, 2002 observaron que el etileno producido como consecuencia de una herida se localiza en células adyacentes al área del

daño, debido a que esas enzimas son inactivas por la rotura de las células. La pérdida de grosor encontrada en los cortes histológicos de ambas campañas, junto con la maduración localizada y el posterior ablandamiento de la zona dañada, podría estar relacionada con esta producción de etileno.

#### **2.1.3.3.- Análisis del parámetro “Índice de moleestado”.-**

A pesar de la importancia que tiene el moleestado en la depreciación de la calidad de la aceituna de mesa, apenas existen métodos estandarizados y objetivos para evaluar su incidencia. A nivel industrial y en trabajos desarrollados recientemente por Jiménez-Jiménez *et al.* (2011), se emplea un índice categórico similar al utilizado en este trabajo. Otros investigadores utilizan, tras el proceso de aderezo, un índice subjetivo basado en 5 categorías de moleestado, en función de la intensidad de color de la zona dañada (Segovia-Bravo *et al.*, 2007).

Con el objetivo de evaluar la variabilidad y fiabilidad de este índice como criterio de selección dentro del programa de mejora genética, se calculó dicho parámetro en una muestra de genotipos en fresco con *moleestado inducido* y en los mismos genotipos una vez aderezados con *moleestado no inducido*. Paralelamente se compararon los resultados con las observaciones histológicas realizadas por categorías de moleestado.

En las tablas 46 y 47 se muestran, para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008, los valores medios e intervalos de confianza del índice del *moleestado inducido* (antes del aderezo) y *no inducido* (después del aderezo) respectivamente.

Antes del proceso de aderezo, los genotipos que presentaron valores superiores y por consiguiente mostraron una mayor sensibilidad al fenómeno fueron: 02-615, 02-1000 y 02-829, con valores medios de 2,62, 2,43 y 2,41, respectivamente. Por el contrario, los genotipos 02-1030, 02-884 y 02-381, presentaron una baja incidencia, obteniéndose valores medios de 1,16, 1,41 y 1,42, respectivamente. A nivel de variedades, ‘Manzanilla de Sevilla’ presentó un valor más alto (2,39), seguido de ‘Gordal Sevillana’ (2,15) y finalmente ‘Arbequina’ (1,48) (Tabla 46).

Después del aderezo, la mayor incidencia se observó en 02-615 y 02-857, con un valor medio para ambos genotipos de 0,78, seguido de 02-383 con 0,76. Los genotipos 02-1030, 02-469 y 02-884, son los que mostraron valores inferiores (0,19, 0,22 y 0,23, respectivamente). Los cultivares Manzanilla de Sevilla y Gordal Sevillana obtuvieron valores similares (0,48 y 0,49, respectivamente) (Tabla 47).

**Tabla 46.-** Valores medios e intervalos de confianza de la incidencia del *molestado inducido* antes del proceso de aderezo, para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008.

Genotipos	Cruzamientos	Media	Intervalos de Confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
02-1030	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	1,16	0,93	1,39
02-381	‘Manzanilla Libre’	1,42	1,21	1,63
02-186	‘Manzanilla Libre’	1,51	1,27	1,75
02-884	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	1,41	1,20	1,62
02-601	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	1,56	1,36	1,76
<b>‘Arbequina’</b>	Progenitor	1,48	1,27	1,69
02-1003	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	1,81	1,60	2,02
02-857	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	1,92	1,71	2,13
02-469	‘Manzanilla Libre’	1,97	1,74	2,20
02-559	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	1,99	1,79	2,19
02-383	‘Manzanilla Libre’	2,09	1,91	2,27
02-1038	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	2,12	1,90	2,34
<b>‘Gordal Sevillana’</b>	Progenitor	2,15	1,96	2,34
<b>‘Manzanilla de Sevilla’</b>	Progenitor	2,39	2,21	2,57
02-829	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	2,41	2,24	2,58
02-1000	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	2,43	2,26	2,60
02-615	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	2,62	2,49	2,75

**Tabla 47.-** Valores medios e intervalos de confianza de la incidencia del *molestado no inducido* después del proceso de aderezo, para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008.

Genotipos	Cruzamientos	Media	Intervalos de Confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
02-1030	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	0,19	0,12	0,25
02-469	‘Manzanilla Libre’	0,22	0,15	0,29
02-884	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	0,23	0,14	0,32
02-601	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	0,31	0,21	0,40
02-381	‘Manzanilla Libre’	0,34	0,25	0,44
02-1038	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	0,39	0,29	0,50
02-1000	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	0,45	0,35	0,55
02-186	‘Manzanilla Libre’	0,46	0,34	0,57
<b>‘Manzanilla de Sevilla’</b>	Progenitor	0,48	0,37	0,58
<b>‘Gordal Sevillana’</b>	Progenitor	0,49	0,38	0,60
02-829	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	0,51	0,39	0,62
02-383	‘Manzanilla Libre’	0,76	0,66	0,85
02-615	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	0,78	0,65	0,90
02-857	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	0,78	0,66	0,91



Estos resultados indican que el índice de molestado es un carácter segregante y, por lo tanto, podría utilizarse para seleccionar genotipos con baja incidencia de daño. En general, los valores medios de *molestado inducido* previos al aderezo fueron superiores a los encontrados en *molestado no inducido* tras el procesado industrial, poniendo manifiesto, por un lado, la mayor afectación de las aceitunas cuando se induce el golpe y, por otro lado, la reducción de la apreciación visual de las manchas en la superficie de los frutos como consecuencia del aderezo. Efectivamente es el *molestado inducido* el que produce más daño, con manchas de un color más intenso en las aceitunas y peor calidad final del producto. Existen diversos trabajos que confirman mayores porcentajes de daños en la recolección mecanizada (que de alguna manera puede parecerse al *molestado inducido*), frente a los obtenidos en la recolección manual (Castro-García *et al.*, 2010; Castro-García *et al.*, 2009; González y Membrillo, 2010; Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011). Por otro lado, el efecto “reductor” del molestado que tiene el proceso de aderezo ha sido citado por algunos autores como Segovia-Bravo *et al.* (2011) que observaron una mejora significativa del color en las áreas contusionadas de aceitunas dañadas de ‘Manzanilla de Sevilla’, tras el aderezo de las mismas.

Para estudiar posibles correspondencias entre molestado antes del aderezo, y después del aderezo, se calcularon correlaciones por rangos de Spearman, obteniéndose un valor de la correlación de 0,62 y una significación  $P \leq 0,05$ , lo que resulta *a priori* muy interesante para el programa de mejora de aceituna de mesa. Esto implica que se podría estimar la sensibilidad al molestado tras el aderezo, en función de los datos obtenidos antes de dicho proceso, independientemente del origen del molestado (*inducido* o *no inducido*). Esto evitaría tener que aderezar todos los genotipos en fases iniciales de evaluación, y permitiría hacer una primera criba de aquellos genotipos con mayores índices de molestado inducido en fruto fresco, lo que supone un ahorro de tiempo y recursos. En un programa de mejora, la evaluación de un gran número de individuos es, sin duda, uno de los aspectos más limitantes, debido al elevado coste en tiempo y dinero (Rallo, 1994a).

Se han realizado, además, tablas de contingencia antes y después del aderezo, estableciéndose grupos homogéneos en función del grado de sensibilidad al molestado (Tablas 48 y 49).

**Tabla 48.-** Grupos homogéneos según índice de molestado, establecidos mediante tablas de contingencia, antes del proceso del aderezo para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. *\*Genotipos con la misma letra, forman grupos homogéneos según tablas de contingencias.*

Genotipos	Cruzamientos	Grupos*
02-1030	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>a</b>
02-381	‘Manzanilla Libre’	<b>ab</b>
02-186	‘Manzanilla Libre’	<b>ab</b>
02-884	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>abc</b>
02-601	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>bc</b>
<b>‘Arbequina’</b>	Progenitor	<b>c</b>
02-1003	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>cd</b>
02-857	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>d</b>
02-469	‘Manzanilla Libre’	<b>d</b>
02-559	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>d</b>
02-383	‘Manzanilla Libre’	<b>e</b>
02-1038	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>df</b>
<b>‘Gordal Sevillana’</b>	Progenitor	<b>df</b>
<b>‘Manzanilla de Sevilla’</b>	Progenitor	<b>fh</b>
02-829	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>fh</b>
02-1000	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>fh</b>
02-615	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>h</b>

**Tabla 49.-** Grupos homogéneos según índice de molestado establecidos mediante tablas de contingencia, después del proceso del aderezo para los genotipos y variedades progenitoras de la campaña 2008. *\*Genotipos con la misma letra, forman grupos homogéneos según tablas de contingencias.*

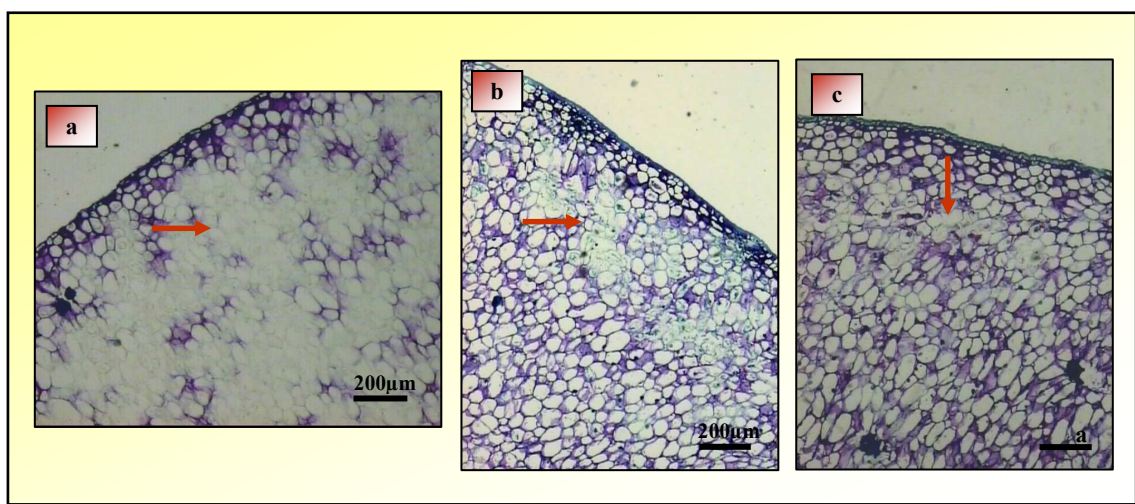
Genotipos	Cruzamientos	Grupos*
02-1030	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>a</b>
02-469	‘Manzanilla Libre’	<b>a</b>
02-884	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>a</b>
02-601	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>ab</b>
02-381	‘Manzanilla Libre’	<b>ab</b>
02-1038	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>bc</b>
02-1000	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’	<b>bc</b>
02-186	‘Manzanilla Libre’	<b>bc</b>
<b>‘Manzanilla de Sevilla’</b>	Progenitor	<b>bc</b>
<b>‘Gordal Sevillana’</b>	Progenitor	<b>bc</b>
02-829	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>c</b>
02-383	‘Manzanilla Libre’	<b>d</b>
02-615	‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’	<b>e</b>
02-857	‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’	<b>e</b>



Las agrupaciones resultaron ser muy similares antes y después del aderezo, salvo para tres genotipos (02-857, 02-469 y 02-186), aunque se pudo observar una mayor variabilidad antes del aderezo. Se observó un grupo menos sensible al molestado antes y después del proceso industrial formado por: 02-1030, 02-381, 02-884 y 02-601. En ambos momentos (antes y después del aderezo), el genotipo 02-615 fue el que mostró una mayor incidencia al molestado. A nivel de cultivares y antes del aderezo, ‘Arbequina’ presentó una susceptibilidad significativamente menor que ‘Gordal Sevillana’ y que ‘Manzanilla de Sevilla’. Estos dos últimos cultivares no mostraron diferencias significativas entre si, en cuanto a las incidencia del molestado en ningún caso.

Por otro lado, se estudió la posible correspondencia entre el daño externo visual y las observaciones a nivel anatómico en preparaciones histológicas. Los resultados fueron variables en función de las muestras (Figura 53). En algunos casos, la clasificación realizada según el tamaño de las manchas (0= no molestados, 1= molestado muy pequeño, 2= molestado pequeño, 3= molestado grande), no se correspondía con el daño histológico observado. Por ejemplo en algunas muestras la pérdida de grosor localizada en la paredes celulares de la zona dañada, fue superior a la categoría que se le adjudicó visualmente (Figura 53a). Por el contrario, en otros cortes los daños encontrados si coincidían con la categoría visual asignada (Figuras 53b y 53c).

**Figura 53.-** Cortes histológicos del genotipo 02-615 (‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’) con categoría 2 (frutos molestado pequeño) (a) y de ‘Manzanilla de Sevilla’ con categoría 2 (b) y 1 (c) (frutos molestado pequeño y frutos molestado muy pequeño, respectivamente) de la campaña 2008. En (a) se puede apreciar que el daño histológico (pérdida de grosor) (→) es mucho mayor que la categoría visual asignada. En (b) y (c) se puede apreciar que el daño histológico (pérdida de grosor) (→) coincide con la categoría visual asignada.



Si bien algunos autores han obtenido buena correspondencia entre índices de molesto basados en categorías visuales (medida subjetiva) e índices obtenidos a partir de imágenes digitalizadas (escandallo digital) (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011), los resultados de este trabajo ponen de manifiesto que el daño externo en la parte superficial del fruto que miden estos índices no siempre refleja el daño interno que afecta a otros tejidos como el mesocarpo y que tiene consecuencias directas en la calidad de la aceituna (ablandamiento de la pulpa).

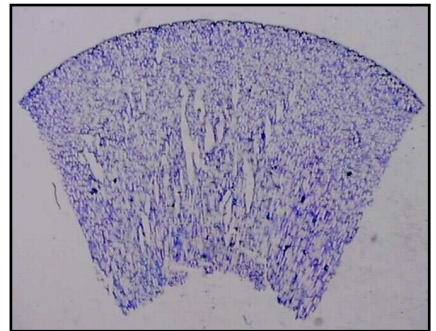
Otros autores han obtenido resultados análogos al evaluar la calidad de frutos sanos y afectados por molesto en aceitunas, tras una fermentación industrial (Segovia-Bravo *et al.*, 2007). La medición del color objetivo (Sánchez-Gómez *et al.*, 1985) del fruto, o de la zona dañada (caso de frutos molestados), mediante espectrofotómetro de color resultó similar a los resultados del índice subjetivo de molesto, obtenido por observación directa.

En este sentido, sería necesario seguir avanzando en desarrollar índices que contemplen no solo la evaluación del daño externo sino que se complementen con alguna medida anatómica para que la valoración real del daño por molesto sea lo más completa posible.

## CAPÍTULO 2



### **2.2.- Evaluación cuantitativa del fenómeno del molestado en frutos de aceituna de mesa**



## ÍNDICE

---

<b>2.2.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-</b>	<b>177</b>
<b>2.2.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-</b>	<b>178</b>
2.2.2.1.- Material vegetal.-	178
2.2.2.2.- Inducción del molestado y observaciones realizadas antes del proceso histológico.-	179
2.2.2.3.- Proceso histológico y medidas realizadas.-	181
2.2.2.4.- Análisis estadístico.-	183
<b>2.2.3.- RESULTADOS.-</b>	<b>183</b>
2.2.3.1.- Parámetros medidos antes del proceso histológico.-	183
2.2.3.1.1.- Intensidad de color.-	183
2.2.3.1.2.- Área de la zona dañada.-	184
2.2.3.2.- Parámetros medidos después del proceso histológico.-	186
2.2.3.2.1.- Número de huecos encontrados en las preparaciones histológicas.-	186
2.2.3.2.2.- Distancias a los huecos encontrados en cada preparación histológica.-	190
<b>2.2.4.- DISCUSIÓN.-</b>	<b>192</b>
2.2.4.1.- Intensidad de color de las zonas dañadas.-	192
2.2.4.2.- Área de las zonas dañadas.-	193
2.2.4.3.- Efecto del tiempo tras el golpe en los parámetros estudiados.-	193
2.2.4.4.- Efecto de las variedades e interacción cultivar/hora en los parámetros analizados.-	196

## ÍNDICE DE TABLAS

---

### Capítulo 2.2.-

<b>Tabla 50.-</b> ANOVA de la intensidad de color, observada visualmente, que aparece después del golpe, según diferentes categorías. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): <b>Color:</b> 0= sin coloración; 1= coloración ligera; 2= coloración media; 3= coloración intensa. <b>ns:</b> no significativo. ....	183
<b>Tabla 51.-</b> ANOVA del área de las zonas dañadas que aparecen después del golpe. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): <b>AT:</b> área total de la zona dañada (mm <sup>2</sup> ); <b>AO:</b> área con mayor intensidad de daño (mm <sup>2</sup> ). <b>ns:</b> no significativo, * significativo $P \leq 0,05$ , **** significativo $P \leq 0,0001$ . ....	184
<b>Tabla 52.-</b> ANOVA del área de la zona dañada. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca'), a las 4 horas del impacto: <b>AT:</b> área total de la zona dañada (mm <sup>2</sup> ) y <b>AO:</b> área con mayor intensidad de daño (mm <sup>2</sup> ). Diferencia significativa $P \leq 0,01$ cuando no coinciden la letra (color rojo) que sigue a las medias. ....	185
<b>Tabla 53.-</b> ANOVA del área de la zona dañada. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca'), a las 24 horas del impacto: <b>AT:</b> área total de la zona dañada (mm <sup>2</sup> ) y <b>AO:</b> área con mayor intensidad de daño (mm <sup>2</sup> ). <b>ns:</b> no significativo cuando si coinciden la letra (color azul) que sigue a las medias. ....	185
<b>Tabla 54.-</b> ANOVA del número de huecos que entrecruzan los arcos de circunferencia, con los se delimita cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): <b>H<sub>Z3</sub>:</b> número de huecos que entrecruzan el segundo arco de circunferencia ( <b>Z3</b> ); <b>H<sub>Z5</sub>:</b> número de huecos que entrecruzan el tercer arco de circunferencia ( <b>Z5</b> ); <b>H<sub>Z7</sub>:</b> número de huecos que entrecruzan el cuarto arco de circunferencia ( <b>Z7</b> ); <b>H<sub>Z9</sub>:</b> número de huecos que entrecruzan el quinto arco de circunferencia ( <b>Z9</b> ); <b>H<sub>Z2</sub>:</b> número de huecos encontrados en el primer trapecio circular ( <b>Z2</b> ); <b>H<sub>Z4</sub>:</b> número de huecos encontrados en el segundo trapecio circular ( <b>Z4</b> ); <b>H<sub>Z6</sub>:</b> número de huecos encontrados en el tercero trapecio circular ( <b>Z6</b> ) y <b>H<sub>Z8</sub>:</b> número de huecos encontrados en el cuarto trapecio circular ( <b>Z8</b> ). <b>ns:</b> no significativo, * significativo $P \leq 0,05$ , *** significativo $P \leq 0,001$ , **** significativo $P \leq 0,0001$ . ....	187

## ÍNDICE DE TABLAS

---

**Tabla 55.-** ANOVA del número de huecos encontrados en la mitad superior e inferior y el porcentaje de huecos para cada una de ellas y para cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **H<sub>ZT</sub>**: número total de huecos encontrados en cada corte histológico (**ZT**); **H<sub>50</sub>**: número de huecos encontrados en la mitad superior ( $H_{Z1}+H_{Z2}+H_{Z3}+H_{Z4}+H_{Z5}$ ), para cada corte histológico; **H<sub>75</sub>**: número de huecos encontrados en la mitad inferior ( $H_{Z6}+H_{Z7}+H_{Z8}+H_{Z9}$ ), para cada corte histológico; **PH<sub>50</sub>**: porcentaje del número de huecos encontrados en la mitad superior, para cada corte histológico. **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\* significativo  $P \leq 0,0001$ ..... 189

**Tabla 56.-** ANOVA de las distancias medidas para cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **D1**: distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha (mm); **D2**: distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la izquierda (mm); **D3**: distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (mm); **D4**: distancia desde el límite del endocarpo hasta el último hueco encontrado (mm); **DT**: distancia lateral total (mm) ( $D1+D2$ ). **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ ... 191

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

### Capítulo 2.2.-

- Figura 54.-** Plantación de olivos situada en una finca comercial de La Carlota, Córdoba. .... 178
- Figura 55.-** Proceso desde la recogida manual en campo de los frutos, hasta su fijación en FAE, antes del proceso histológico: (a) recogida manual de las aceitunas; (b) frutos pesados en campo; (c) caída de los frutos desde una altura de un metro, sobre una caja de plástico con un fondo de madera; (d) fotografías de ‘Manzanilla de Sevilla’, después de 4 horas del impacto; (e) fotografías de ‘Manzanilla de Sevilla’, después de 24 horas del impacto y (f) fijación de los frutos en botes de plástico con FAE. .... 179
- Figura 56.-** Cortes de los frutos de ‘Manzanilla de Sevilla’ (a) y ‘Hojiblanca’ (b), tras 24 horas desde el impacto y sumergidos en alcohol etílico (70%). .... 180
- Figura 57.-** Fotografías de las porciones donde se aprecian las diferentes categorías empleadas para determinar el color, que aparecen en las zonas dañadas tras el golpe: categoría 0= sin coloración (a); 1= coloración ligera (b); 2= coloración media (c); 3= coloración intensa (d). .... 180
- Figura 58.-** Corte histológico de ‘Manzanilla de Sevilla’ a las 24 horas de recibir el golpe. Se indican los cuatro trapecios en los que se dividió cada muestra, los cinco arcos de circunferencias y el radio total para cada corte: **Z1**: primer arco de circunferencia; **Z3**: segundo arco de circunferencia; **Z5**: tercer arco de circunferencia; **Z7**: cuarto arco de circunferencia; **Z9**: quinto arco de circunferencia; **Z2**: primer trapecio circular; **Z4**: segundo trapecio circular; **Z6**: tercer trapecio circular; **Z8**: cuarto trapecio circular y **RT**: radio total de cada corte histológico (mm). .... 181
- Figura 59.-** Corte histológico de ‘Manzanilla de Sevilla’ a las 24 horas de recibir el golpe. Se indica cada una de las distancias que se han medido en cada muestra: **D1**: distancia desde el radio total (**RT**) de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha (mm); **D2**: distancia desde el radio total (**RT**) de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la izquierda (mm); **D3**: distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (mm); **D4**: distancia desde el límite del endocarpo hasta el último hueco encontrado (mm); **DT**: distancia lateral total (mm) (**D1**+**D2**) y **RT**: radio total de cada corte histológico (mm). .... 182

### 2.2.1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.-

Uno de los objetivos que persigue el programa de mejora genética de aceituna de mesa, puesto en marcha en 2003 por la Universidad de Sevilla, es la obtención de nuevas variedades adaptadas a la recolección mecanizada. El molesto de la aceituna es una de las principales limitaciones a dicho tipo de recolección, por la depreciación en la calidad que supone la aparición de manchas en la epidermis. Sin embargo, existe escasa información contrastada sobre la susceptibilidad de las variedades de mesa. Por este motivo, la puesta a punto de un método fiable de evaluación de la incidencia de este fenómeno se planteó como un requisito dentro del programa y, en el año 2009, se empezó a trabajar en colaboración con el IAS-CSIC (Instituto de Agricultura Sostenible del Consejo Superior de Investigaciones Científicas) de Córdoba, en la evaluación del molesto.

Los primeros trabajos realizados se centraron en el desarrollo de una metodología histológica adecuada, para evaluar tanto frutos aderezados en verde (“estilo español”) como frutos sin aderezar (frescos), según se describe en el capítulo 2.1. de esta tesis.

En dichos trabajos se ha puesto a punto, entre otras cosas, el golpe estandarizado que reciben los frutos desde una determinada altura, el efecto de los tiempos transcurridos desde el golpe hasta su fijación, el recorte y orientación de las zonas dañadas y no dañadas por el golpe y la tinción de cortes histológicos. Se ha hecho además, una primera descripción general y cualitativa de los daños que se visualizan a nivel de la superficie de los frutos y del mesocarpo, destacando la aparición de manchas y cambios de color por oxidación en ambos tejidos, así como la disminución del grosor de la pared celular e incluso la ruptura del tejido (presencia de huecos) en el mesocarpo.

En este capítulo se pretende conocer más en detalle lo que sucede realmente en los frutos como consecuencia del molesto, intentando cuantificar los cambios previamente descritos a través de medidas cuantitativas objetivas que permitan un análisis estadístico posterior. Además, se quiere cuantificar el efecto de la variedad y del tiempo transcurrido tras el golpe estandarizado.

Con la información obtenida, se podría optimizar en un futuro un método de selección de nuevos genotipos que presenten una baja incidencia a esta alteración fisiológica, basado en parámetros cuantitativos objetivos y de sencilla medida sobre preparaciones histológicas o porciones fijadas de fruto.

El objetivo principal de este trabajo ha sido evaluar cuantitativamente el daño por *molesto inducido* en frutos sin aderezar (frescos), de dos de las variedades más



importantes de aceituna de mesa, una de ellas considerada más sensible al fenómeno, ‘Manzanilla de Sevilla’, y otra más resistente, ‘Hojiblanca’, a partir de porciones de fruto fijadas y de preparaciones histológicas siguiendo, la metodología optimizada en el apartado 2.1.2.3. de esta tesis.

Más concretamente los objetivos han sido:

- 1.- Evaluar en porciones fijadas de fruto la intensidad de color del mesocarpo en la zona dañada por *molesto inducido*.
- 2.- Evaluar en preparaciones histológicas 20 parámetros cuantitativos relacionados con el área, número de huecos y distancias a los huecos en las zonas dañadas por el golpe.
- 3.- Analizar el efecto de la variedad (‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Hojiblanca’) y de los tiempos transcurridos tras el golpe (4 h y 24 h) en los parámetros estudiados.

## 2.2.2.- MATERIAL Y MÉTODOS.-

### 2.2.2.1.- Material vegetal.-

En este ensayo se emplearon las mismas muestras descritas en el apartado 2.1.2.1.2. Se tomaron frutos frescos de dos de las variedades más importantes que se destinan actualmente a aceituna de mesa: ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Hojiblanca’. En septiembre de 2009, las aceitunas fueron recogidas a mano en el momento óptimo de madurez (IM=1 según Ferreira, 1979), en una finca comercial de La Carlota, Córdoba (Figura 54). Los árboles de 10 años de edad, se encontraban en un marco de plantación de 7 x 7 m, con riego por goteo y aplicación de nutrientes mediante fertirrigación.

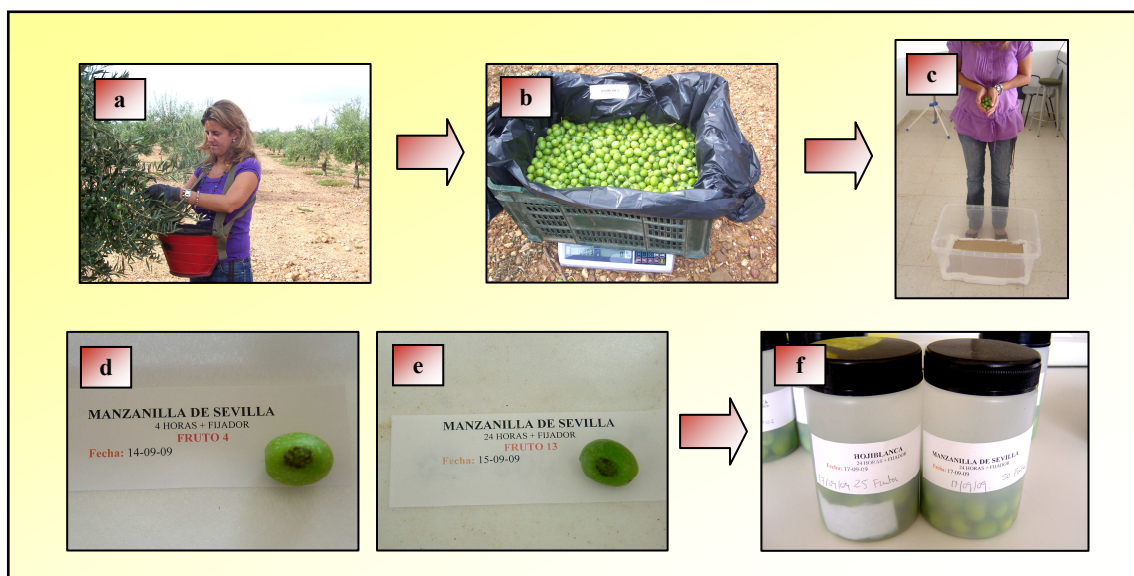
**Figura 54.-** Plantación de olivos situada en una finca comercial de La Carlota, Córdoba.



**2.2.2.2.- Inducción del molesto y observaciones realizadas antes del proceso histológico.-**

Del total de frutos recogidos, se eligieron al azar 100 frutos no dañados por variedad y se dejaron caer desde una altura de un metro sobre una caja de plástico con un fondo de madera. Se fijaron y se conservaron en FAE (formalina, ácido acético, 95% de etanol y agua destilada (10:5:50:35 v/v/v/v) (Berlyn y Mikshe, 1976) 50 frutos a las 4 horas y 50 a las 24 horas después del impacto (Figura 55).

**Figura 55.-** Proceso desde la recogida manual en campo de los frutos, hasta su fijación en FAE, antes del proceso histológico: (a) recogida manual de las aceitunas; (b) frutos pesados en campo; (c) caída de los frutos desde una altura de un metro, sobre una caja de plástico con un fondo de madera; (d) fotografías de ‘Manzanilla de Sevilla’, después de 4 horas del impacto; (e) fotografías de ‘Manzanilla de Sevilla’, después de 24 horas del impacto y (f) fijación de los frutos en botes de plástico con FAE.



Posteriormente, del total de frutos fijados se tomaron al azar 10 frutos por variedad y número de horas tras el impacto, para su estudio histológico, resultando 40 muestras:

- ✓ 10 muestras (frutos) de ‘Manzanilla de Sevilla’ después de 4 horas del impacto.
- ✓ 10 muestras (frutos) de ‘Manzanilla de Sevilla’ después de 24 horas del impacto.
- ✓ 10 muestras (frutos) de ‘Hojiblanca’ después de 4 horas del impacto.
- ✓ 10 muestras (frutos) de ‘Hojiblanca’ después de 24 horas del impacto.

Las muestras se sometieron a una rehidratación y recorte de las zonas molestadas y no dañadas por el golpe estandarizado, según se describe en el apartado 2.1.2.3.1.2.

Una vez obtenidas ambas zonas y antes de ser sometidas al procesado histológico, se realizaron fotografías de cada uno de las porciones recortadas, con una lupa binocular (modelo Leica Mz12) acoplada a un sistema de análisis de imagen Leica Qwin. Para

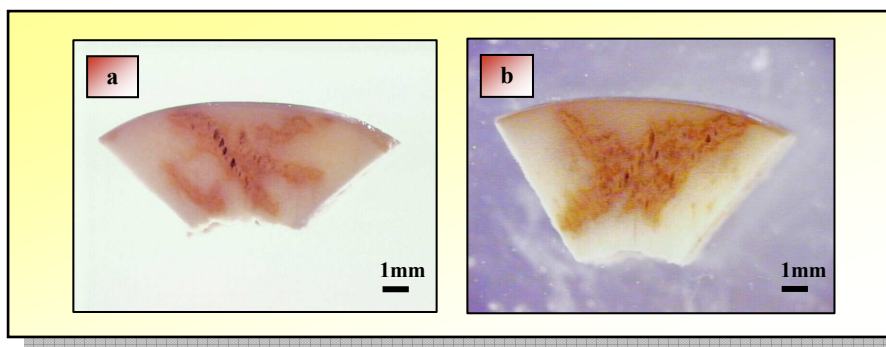
evitar su deshidratación, durante los procesos de corte y mientras se realizaban las fotografías, las muestras se sumergieron en alcohol etílico (70%) (Figura 56).

A partir de las imágenes obtenidas, se procedió a:

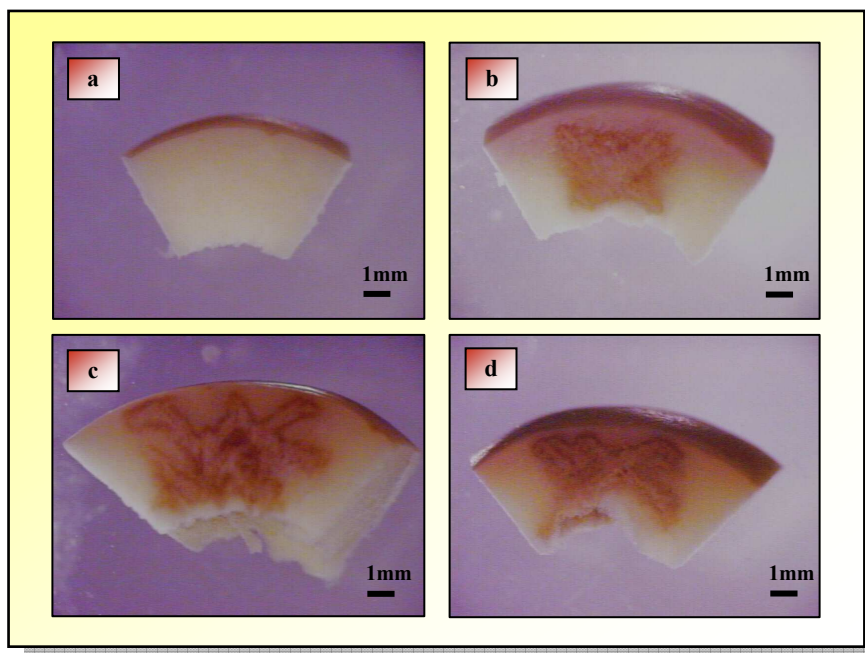
1.- Clasificar las manchas aparecidas en el mesocarpio en diferentes categorías, según la intensidad del color: **0**= sin coloración; **1**= coloración ligera; **2**= coloración media; **3**= coloración intensa (Figura 57).

2.- Medir las áreas de las zonas dañadas: área total de la zona dañada ( $\text{mm}^2$ ) (**AT**) y, dentro de ésta, el área con mayor intensidad de daño ( $\text{mm}^2$ ) (**AO**). Estas zonas se distinguían fácilmente por la coloración más oscura que adquirirían después del golpe.

**Figura 56.-** Cortes de los frutos de ‘Manzanilla de Sevilla’ (a) y ‘Hojiblanca’ (b), tras 24 horas desde el impacto y sumergidos en alcohol etílico (70%).



**Figura 57.-** Fotografías de las porciones donde se aprecian las diferentes categorías empleadas para determinar el color, que aparecen en las zonas dañadas tras el golpe: categoría **0**= sin coloración (a); **1**= coloración ligera (b); **2**= coloración media (c); **3**= coloración intensa (d).

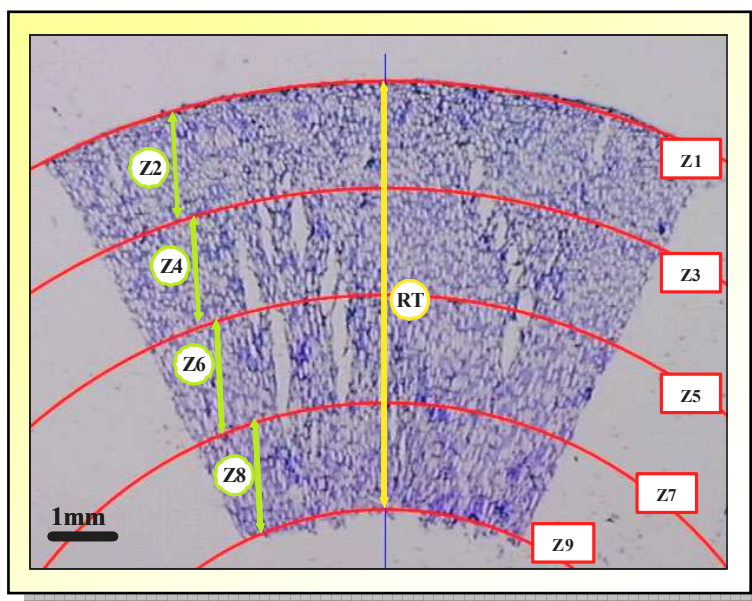


### 2.2.2.3.- Proceso histológico y medidas realizadas.-

Las 40 muestras obtenidas se sometieron a un proceso histológico de deshidratación en una serie de alcohol butírico terciario (Berlyn y Miksche 1976) e infiltración en parafina Histosec<sup>®</sup> con punto de fusión 56-58 °C (Merck, Darmstadt, Alemania), según se describe en el apartado 2.1.2.3. de esta Tesis.

Para las observaciones histológicas se realizaron cortes en microtomo de rotación (con un grosor de 12 µm), montaje de cintas y tinción en azul de toluidina (0,05%) durante 60 minutos, (Sakai, 1973). Los cortes se observaron con un **microscopio óptico Nikon** y un procesador de imágenes **Leica Qwin**, acoplado al microscopio para captura de imágenes. Cada una de las fotografías de las 40 muestras analizadas (10 cortes histológicos/variedad y tiempo), se dividió en cuatro trapecios circulares (**Z2**, **Z4**, **Z6** y **Z8**), desde la parte externa del fruto (epidermis) hasta la parte exterior del endocarpo de los frutos. Para realizar esta división se utilizaron cinco arcos de circunferencia (**Z1**, **Z3**, **Z5**, **Z7** y **Z9**), quedando dividido el radio total (**RT**) de cada corte histológico en cuatro partes iguales. El arco más exterior (**Z1**) se hizo coincidir con la epidermis de los frutos y el más interior (**Z9**) con la parte más externa del endocarpo (Figura 58).

**Figura 58.-** Corte histológico de ‘Manzanilla de Sevilla’ a las 24 horas de recibir el golpe. Se indican los cuatro trapecios en los que se dividió cada muestra, los cinco arcos de circunferencias y el radio total para cada corte: **Z1**: primer arco de circunferencia; **Z3**: segundo arco de circunferencia; **Z5**: tercer arco de circunferencia; **Z7**: cuarto arco de circunferencia; **Z9**: quinto arco de circunferencia; **Z2**: primer trapecio circular; **Z4**: segundo trapecio circular; **Z6**: tercer trapecio circular; **Z8**: cuarto trapecio circular y **RT**: radio total de cada corte histológico (mm).





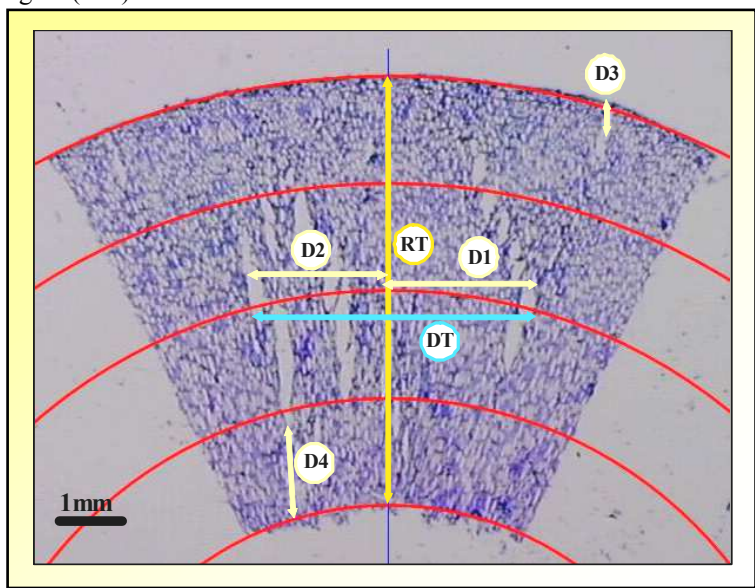
Una vez dividida cada imagen se tomaron las siguientes medidas:

**1.- Número de huecos:** se procedió a contabilizar el número total de huecos existentes en cada preparación histológica para ambas variedades y tiempos: los que quedaban incluidos dentro de cada trapecio circular (**Z2, Z4, Z6 y Z8**) y los atravesados por cada arco de circunferencia (**Z1, Z3, Z5, Z7 y Z9**), de tal manera que ningún hueco fuera contabilizado dos veces. Se empleó la nomenclatura **H<sub>Zi</sub>**, para el número de huecos que entrecruzan los arcos de circunferencias (**i = 3, 5, 7 y 9**) y para el número de huecos dentro de cada trapecio circular (**i = 2, 4, 6 y 8**).

A partir de estos datos se calcularon el número de huecos en la mitad superior (**H<sub>50</sub> = H<sub>Z1</sub>+H<sub>Z2</sub>+H<sub>Z3</sub>+H<sub>Z4</sub>+H<sub>Z5</sub>**), en la mitad inferior (**H<sub>75</sub> = H<sub>Z6</sub>+H<sub>Z7</sub>+H<sub>Z8</sub>+H<sub>Z9</sub>**), número total de huecos encontrados en cada preparación histológica (**H<sub>ZT</sub>**), así como el porcentaje relativo de huecos en la mitad superior (**PH<sub>50</sub> = ((Z1+Z2+Z3+Z4+Z5)/H<sub>ZT</sub>) x 100**).

**2.- Distancias a los huecos:** distancia desde el radio central hasta el hueco más alejado a la derecha (mm) (**D1**); distancia desde el radio central hasta el hueco más alejado a la izquierda (mm) (**D2**); distancia desde el primer arco de circunferencia (**Z1**) hasta el primer hueco encontrado (mm) (**D3**); **DT**: distancia lateral total (D1+D2) (mm); **D4**: distancia desde el límite del endocarpo (**Z9**) hasta el último hueco encontrado (mm) y **RT**: radio total de cada corte histológico (mm) (Figura 59).

**Figura 59.-** Corte histológico de ‘Manzanilla de Sevilla’ a las 24 horas de recibir el golpe. Se indica cada una de las distancias que se han medido en cada muestra: **D1**: distancia desde el radio total (**RT**) de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha (mm); **D2**: distancia desde el radio total (**RT**) de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la izquierda (mm); **D3**: distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (mm); **D4**: distancia desde el límite del endocarpo hasta el último hueco encontrado (mm); **DT**: distancia lateral total (mm) (D1+D2) y **RT**: radio total de cada corte histológico (mm).



#### 2.2.2.4.- Análisis estadístico.-

Los datos recopilados fueron analizados con el programa informático **StatGraphics Plus V.5.1**.

Se realizó el análisis de la varianza (**ANOVA**) para los factores: variedad y horas desde el impacto. Para el análisis de la varianza se tuvo en cuenta el ajuste de los parámetros a la normalidad. Cuando fue necesario, se realizaron las transformaciones oportunas.

#### 2.2.3.- RESULTADOS.-

##### 2.2.3.1.- Parámetros medidos antes del proceso histológico.-

###### 2.2.3.1.1.- Intensidad de color.-

Para cuantificar el fenómeno de pardeamiento u oscurecimiento, se hicieron estimaciones visuales de la intensidad de color (**0**= sin coloración; **1**= coloración ligera; **2**= coloración media; **3**= coloración intensa) tal y como se describe en materiales y métodos. Se recogen en la tabla 50 los valores medios para ambos cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca'), horas después del golpe (4 y 24 horas) e interacción de ambos factores (cultivar y horas).

**Tabla 50.-** ANOVA de la intensidad de color, observada visualmente, que aparece después del golpe, según diferentes categorías. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **Color:** **0**= sin coloración; **1**= coloración ligera; **2**= coloración media; **3**= coloración intensa. **ns:** no significativo.

Factores		Parámetro	
		Color	
Cultivar	'Manzanilla de Sevilla'	1,80	ns
	'Hojiblanca'	2,05	
Horas	4 h	1,80	ns
	24h	2,05	
Interacción	'Manzanilla de Sevilla' 4 h	1,80	ns
	'Manzanilla de Sevilla' 24 h	1,80	
	'Hojiblanca' 4 h	1,80	
	'Hojiblanca' 24 h	2,30	

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el pardeamiento de los frutos tras un golpe provocado, ni entre cultivares, ni entre horas después del impacto recibido por los frutos, ni tampoco para la interacción entre ambos factores (cultivar y horas tras el golpe) cuando el molestado se evaluó visualmente. No obstante, hay que

señalar que los valores medios para el factor tiempo, han sido algo superiores a las 24 horas después del impacto.

#### 2.2.3.1.2.- Área de la zona dañada.-

En la tabla 51 se pueden observar los resultados de los valores medios para el área total de la zona dañada (**AT**) y el área con mayor intensidad de daño (**AO**) para los factores: cultivar, horas después del golpe e interacción entre ellos. Las medidas de estos parámetros se realizaron en las zonas dañadas, sobre fotografías de porciones de fruto obtenidas antes del proceso histológico (Figura 56).

Se han encontrado diferencias estadísticamente significativas para **AT** y **AO** entre las 4 y 24 horas tras el impacto y en la interacción entre cultivar y horas. Por el contrario, no se han obtenido tales diferencias entre las variedades estudiadas, aunque los valores medios obtenidos en ‘Manzanilla de Sevilla’ han sido superiores que en ‘Hojiblanca’ tanto para el área total de la zona dañada como para el área más oscura.

**Tabla 51.-** ANOVA del área de las zonas dañadas que aparecen después del golpe. Cultivares (‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Hojiblanca’) y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **AT**: área total de la zona dañada (mm<sup>2</sup>); **AO**: área con mayor intensidad de daño (mm<sup>2</sup>). **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\*\*\* significativo  $P \leq 0,0001$ .

Factores		Parámetros			
		AT		AO	
Cultivar	‘Manzanilla de Sevilla’	24,51	ns	16,49	ns
	‘Hojiblanca’	23,29		15,77	
Horas	4 h	18,74	****	11,17	****
	24h	29,06		21,09	
Interacción	‘Manzanilla de Sevilla’ 4 h	20,91	*	12,62	*
	‘Manzanilla Sevilla’ 24 h	28,11		20,35	
	‘Hojiblanca’ 4 h	16,58		9,71	
	‘Hojiblanca’ 24 h	30,00		21,84	

A las cuatro horas después del impacto (Tabla 52) sí se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Hojiblanca’ para ambos parámetros (**AT** y **AO**), presentando la variedad Hojiblanca menor superficie dañada que ‘Manzanilla de Sevilla’. La industria del aderezo considera al cultivar ‘Manzanilla de Sevilla’ más sensible al molestado que ‘Hojiblanca’ en función de visualizaciones empíricas en fábrica. Las diferencias observadas entre ambas variedades a nivel de la superficie afectada (**AT** y **AO**) son muy interesantes por tratarse de parámetros

objetivos que podrían ser indicativos de una mayor o menor sensibilidad al molesto. Sin embargo estas diferencias no se mantienen a las 24 horas del golpe (Tabla 53).

**Tabla 52.-** ANOVA del área de la zona dañada. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca'), a las 4 horas del impacto: **AT**: área total de la zona dañada (mm<sup>2</sup>) y **AO**: área con mayor intensidad de daño (mm<sup>2</sup>). Diferencia significativa  $P \leq 0,01$  cuando no coinciden la letra (color rojo) que sigue a las medias.

Cultivar/Parámetros	AT	AO
'Manzanilla de Sevilla'	20,91 <sup>a</sup>	12,62 <sup>a</sup>
'Hojiblanca'	16,58 <sup>b</sup>	9,71 <sup>b</sup>

**Tabla 53.-** ANOVA del área de la zona dañada. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca'), a las 24 horas del impacto: **AT**: área total de la zona dañada (mm<sup>2</sup>) y **AO**: área con mayor intensidad de daño (mm<sup>2</sup>). **ns**: no significativo cuando si coinciden la letra (color azul) que sigue a las medias.

Cultivar/Parámetros	AT	AO
'Manzanilla Sevilla'	28,11 <sup>a</sup>	20,35 <sup>a</sup>
'Hojiblanca'	30,00 <sup>a</sup>	21,84 <sup>a</sup>

Por otra parte **AT** y **AO** aumentaron significativamente ( $P \leq 0,0001$ ) con el tiempo transcurrido después del golpe. A las 24 horas los valores medios han sido siempre mayores (29,06 mm<sup>2</sup> y 21,09 mm<sup>2</sup> para **AT** y **AO**, respectivamente) que a las 4 horas (18,74 mm<sup>2</sup> y 11,17 mm<sup>2</sup>) (Tabla 51).

Para el cultivar Manzanilla de Sevilla, el área total de la zona dañada presenta un valor más alto a las 24 horas (28,11 mm<sup>2</sup>), frente a la obtenida a las 4 horas (20,91 mm<sup>2</sup>). Resultados similares se han obtenido para la variedad Hojiblanca: 21,84 mm<sup>2</sup> y 30,00 mm<sup>2</sup>, a las 4 y 24 horas después de producirse el golpe.



### 2.2.3.2.- Parámetros medidos después del proceso histológico.-

#### 2.2.3.2.1.- Número de huecos encontrados en las preparaciones histológicas.-

Como se indicó en materiales y métodos se ha cuantificado el número de huecos encontrados en cortes histológicos, dividiendo previamente dichos cortes en cuatro trapecios circulares (**Z2**, **Z4**, **Z6** y **Z8**) delimitados por cinco arcos de circunferencia, desde la epidermis hasta el final del mesocarpo (**Z1**, **Z3**, **Z5**, **Z7** y **Z9**) (Figura 58). Se han contabilizado tanto los huecos atravesados por los arcos de circunferencia (**H<sub>Z3</sub>**, **H<sub>Z5</sub>**, **H<sub>Z7</sub>** y **H<sub>Z9</sub>**) como los que se encontraban dentro de las zonas trapezoidales (**H<sub>Z2</sub>**, **H<sub>Z4</sub>**, **H<sub>Z6</sub>** y **H<sub>Z8</sub>**). Los valores medios se recogen en la tabla 54.

En dicha tabla se puede observar, que para el parámetro **H<sub>Z3</sub>** (número de huecos que entrecruzan el segundo arco de circunferencia (**Z3**)), se han encontrado diferencias significativas entre los cultivares Manzanilla de Sevilla y Hojiblanca ( $P < 0,001$ ) y entre las horas después del impacto (4 y 24) ( $P < 0,0001$ ). El número de huecos/grietas ha sido significativamente superior para ‘Manzanilla de Sevilla’, presentando un valor medio de 3,15, mientras que en ‘Hojiblanca’ ha sido de 1,25. Por otra parte a las 24 horas después de producirse el golpe estandarizado, también se observó un aumento significativo del número de grietas encontradas en ese segundo arco (3,45) con respecto a las encontradas a las 4 horas (0,95), con un grado de significación bastante alto. La interacción entre cultivar y horas después del impacto no ha resultado significativa. Los valores medios de huecos en **H<sub>Z3</sub>** para ‘Manzanilla de Sevilla’ han sido superiores que para ‘Hojiblanca’ tanto a las 4 como a las 24 horas tras el impacto.

Para el parámetro **H<sub>Z5</sub>** (número de huecos que entrecruzan el tercer arco de circunferencia (**Z5**)), se han obtenido diferencias significativas para el factor horas, con un grado de significación muy alto ( $P \leq 0,0001$ ), observándose un mayor número de grietas en esta zona a las 24 horas del impacto. Aunque la variedad Manzanilla de Sevilla presentó mayor número de huecos que entrecruzan **H<sub>Z5</sub>**, con respecto a la variedad Hojiblanca, tanto a las 4 horas (2,00 y 1,00 huecos respectivamente) como a las 24 horas (4,30 y 3,90), estas diferencias no fueron significativas. Resultados similares han sido encontrados en los parámetros **H<sub>Z7</sub>** (número de huecos que entrecruzan el cuarto arco de circunferencia (**Z7**)), **H<sub>Z2</sub>** (número de huecos encontrados en el primer trapecio circular (**Z2**)), **H<sub>Z4</sub>** (número de huecos encontrados en el segundo trapecio circular (**Z4**)) y **H<sub>Z6</sub>** (número de huecos encontrados en el tercero trapecio circular (**Z6**)), excepto que la significación para el último, ha sido menor ( $P \leq 0,05$ ).

**Tabla 54.-** ANOVA del número de huecos que entrecruzan los arcos de circunferencia, con los se delimita cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **H<sub>Z3</sub>**: número de huecos que entrecruzan el segundo arco de circunferencia (**Z3**); **H<sub>Z5</sub>**: número de huecos que entrecruzan el tercer arco de circunferencia (**Z5**); **H<sub>Z7</sub>**: número de huecos que entrecruzan el cuarto arco de circunferencia (**Z7**); **H<sub>Z9</sub>**: número de huecos que entrecruzan el quinto arco de circunferencia (**Z9**); **H<sub>Z2</sub>**: número de huecos encontrados en el primer trapecio circular (**Z2**); **H<sub>Z4</sub>**: número de huecos encontrados en el segundo trapecio circular (**Z4**); **H<sub>Z6</sub>**: número de huecos encontrados en el tercero trapecio circular (**Z6**) y **H<sub>Z8</sub>**: número de huecos encontrados en el cuarto trapecio circular (**Z8**). **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ , \*\*\*\* significativo  $P \leq 0,0001$ .

Factores		Parámetros															
		<b>H<sub>Z3</sub></b>		<b>H<sub>Z5</sub></b>		<b>H<sub>Z7</sub></b>		<b>H<sub>Z9</sub></b>		<b>H<sub>Z2</sub></b>		<b>H<sub>Z4</sub></b>		<b>H<sub>Z6</sub></b>		<b>H<sub>Z8</sub></b>	
Cultivar	'Manzanilla de Sevilla'	3,15	***	3,15	ns	1,95	ns	0,30	ns	0,85	ns	2,90	ns	2,10	ns	0,40	ns
	'Hojiblanca'	1,25		2,45		1,50		0,40		1,00		2,65		1,40		0,25	
Horas	4 h	0,95	****	1,50	****	1,05	***	0,25	ns	0,45	***	1,80	***	1,25	*	0,30	ns
	24h	3,45		4,10		2,40		0,45		1,40		3,75		2,25		0,35	
Interacción	'Manzanilla de Sevilla' 4 h	1,60	ns	2,00	ns	1,00	ns	0,40	*	0,60	ns	1,90	ns	1,50	ns	0,40	ns
	'Manzanilla de Sevilla' 24 h	4,70		4,30		2,90		0,20		1,10		3,90		2,70		0,40	
	'Hojiblanca' 4 h	0,30		1,00		1,10		0,10		0,30		1,70		1,00		0,20	
	'Hojiblanca' 24 h	2,20		3,90		1,90		0,70		1,70		3,60		1,80		0,30	

En todos, el número de huecos aumentó a las 24 horas del golpe, con respecto a la primera observación, hecha a las 4 horas. En ninguno de estos parámetros se ha encontrado diferencias estadísticamente significativas entre cultivares, ni tampoco para la interacción de ambos factores (cultivar y horas).

Para el parámetro  $H_{Z9}$  (número de huecos que entrecruzan el quinto arco de circunferencia ( $Z9$ )), solamente se ha localizado diferencias significativas para la interacción cultivar/hora, con un grado de significación de  $P \leq 0,05$ . En el caso de ‘Manzanilla de Sevilla’, el número de huecos encontrado en el quinto arco de circunferencia, ha sido superior a las 4 horas tras el impacto (0,40). Todo lo contrario ocurre en el cultivar Hojiblanca, donde se ha observado un valor medio más alto a las 24 horas (0,70).

Por último señalar, que para el parámetro  $H_{Z8}$  (número de huecos encontrados en el cuarto trapecio circular ( $Z8$ )), no se han observado diferencias significativas en ningún caso (cultivares, hora e interacción entre ambos).

En la tabla 55, se recogen los valores medios del número total de huecos encontrados en cada corte histológico ( $H_{ZT}$ ), los de la mitad superior ( $H_{50}$ ) e inferior ( $H_{75}$ ), para ambos cultivares (‘Manzanilla’ y ‘Hojiblanca’), tiempos tras el impacto (4 y 24 horas) e interacción de ambos factores. También se indican los valores medios de los porcentajes de huecos en la mitad superior ( $PH_{50}$ ), para los mismos factores (cultivares, horas, e interacción de ambos).

En el primer parámetro,  $H_{ZT}$ : número total de huecos en cada corte histológico, se han encontrado diferencias significativas entre cultivares ( $P \leq 0,05$ ) y entre horas ( $P \leq 0,0001$ ), pero no para la interacción entre ambos factores estudiados. A nivel de cultivares, la ‘Manzanilla de Sevilla’ presentó más huecos totales (14,90), que el cultivar Hojiblanca (10,90). En cuanto a las diferencias encontradas para el factor horas, a las 24 horas después del impacto se observó un incremento del número total de huecos (18,15) con respecto a las 4 horas (7,65). Resultados similares se han obtenido para el parámetro  $H_{50}$  (número de huecos encontrados en la mitad superior ( $H_{Z1}+H_{Z2}+H_{Z3}+H_{Z4}+H_{Z5}$ )). En el caso del número de huecos encontrados en la mitad inferior de cada corte histológico ( $H_{75}$ ), se han observado también diferencias significativas, pero solo entre horas, de forma que el valor es mayor a las 24 horas tras el impacto (5,45) que a las 4 horas (2,85). Aunque para este parámetro no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas a nivel de cultivares, los valores han sido algo superiores para la ‘Manzanilla de Sevilla’.

**Tabla 55.-** ANOVA del número de huecos encontrados en la mitad superior e inferior y el porcentaje de huecos para cada una de ellas y para cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **H<sub>ZT</sub>**: número total de huecos encontrados en cada corte histológico (**ZT**); **H<sub>50</sub>**: número de huecos encontrados en la mitad superior ( $H_{Z1}+H_{Z2}+H_{Z3}+H_{Z4}+H_{Z5}$ ), para cada corte histológico; **H<sub>75</sub>**: número de huecos encontrados en la mitad inferior ( $H_{Z6}+H_{Z7}+H_{Z8}+H_{Z9}$ ), para cada corte histológico; **PH<sub>50</sub>**: porcentaje del número de huecos encontrados en la mitad superior, para cada corte histológico. **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\* significativo  $P \leq 0,0001$ .

Factores		Parámetros							
		H <sub>ZT</sub>		H <sub>50</sub>		H <sub>75</sub>		PH <sub>50</sub>	
Cultivar	'Manzanilla de Sevilla'	14,90	*	10,15	*	4,75	ns	68,74	ns
	'Hojiblanca'	10,90		7,35		3,55		64,50	
Horas	4 h	7,65	****	4,80	****	2,85	**	61,95	*
	24h	18,15		12,70		5,45		71,28	
Interacción	'Manzanilla de Sevilla' 4 h	9,60	ns	6,30	ns	3,30	ns	66,70	ns
	'Manzanilla de Sevilla' 24 h	20,20		14,00		6,20		70,78	
	'Hojiblanca' 4 h	5,70		3,30		2,40		57,21	
	'Hojiblanca' 24 h	16,10		11,40		4,70		71,79	

En el porcentaje de número de huecos localizados en la mitad superior (**PH<sub>50</sub>**) se han encontrado diferencias estadísticas para el factor horas con un grado de significación de  $P \leq 0,05$ . A las 24 horas después de producirse el golpe, se ha observado un 71,28% de huecos, frente a un 61,95% a las 4 horas del impacto. El factor cultivar no ha resultado significativo para este parámetro.

Los resultados obtenidos para el parámetro **H<sub>ZT</sub>**, confirman de nuevo la mayor susceptibilidad que presenta la variedad Manzanilla de Sevilla al fenómeno fisiológico del molesto, en comparación con ‘Hojiblanca’ al encontrarse un mayor número de huecos, después del golpe estandarizado que recibieron sus frutos.

Los mayores daños (huecos/grietas), se han localizado en la mitad superior de los cortes histológicos (**H<sub>50</sub>**). Es de nuevo ‘Manzanilla de Sevilla’ la que presenta una mayor susceptibilidad al fenómeno, frente al cultivar Hojiblanca.

#### 2.2.3.2.2.- Distancias a los huecos encontrados en cada preparación histológica.-

En la tabla 56, se encuentran reflejados los valores medios de las diferentes distancias, que se han medido para cada uno de los cortes histológicos (Figura 59).

Se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre cultivares, para los parámetros: **D1**: distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha (mm), **D3**: distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (mm) y **DT**: distancia lateral total (mm) (**D1+D2**).

Para las distancias **D1** y **DT**, ‘Manzanilla de Sevilla’ presenta valores superiores (1,82 y 3,39 mm, respectivamente) a ‘Hojiblanca’ (1,22 y 2,44). En cambio, para la distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (**D3**), el valor más alto lo podemos observar para el cultivar Hojiblanca (0,76 mm). En todas ellas, el grado de significación ha sido de  $P \leq 0,01$ .

Para el factor hora (4 y 24 horas), se han obtenido diferencias significativas en los parámetros: **D2** (distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la izquierda (mm)), **D3** (distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (mm)) y **DT** (distancia lateral total (mm) (**D1+D2**)).

A las 4 horas después de producirse el golpe, el valor medio observado para la distancia **D3** ha sido superior (0,76 mm), que el obtenido a las 24 horas (0,42 mm). Por el contrario, para las distancias **D2** y **DT**, a medida que aumentan el número de horas desde el golpe hasta su fijación (24 horas), se incrementa también los valores de dichas distancias (1,66 y 3,36, respectivamente).

**Tabla 56.-** ANOVA de las distancias medidas para cada corte histológico. Cultivares ('Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca') y tiempo tras el impacto (4 y 24 horas): **D1**: distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha (mm); **D2**: distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la izquierda (mm); **D3**: distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (mm); **D4**: distancia desde el límite del endocarpo hasta el último hueco encontrado (mm); **DT**: distancia lateral total (mm) (D1+D2). **ns**: no significativo, \* significativo  $P \leq 0,05$ , \*\* significativo  $P \leq 0,01$ , \*\*\* significativo  $P \leq 0,001$ .

Factores		Parámetros									
		D1		D2		D3		D4		DT	
Cultivar	'Manzanilla de Sevilla'	1,82	**	1,57	ns	0,42	**	0,26	ns	3,39	**
	'Hojiblanca'	1,22		1,22		0,76		0,55		2,44	
Horas	4 h	1,33	ns	1,13	*	0,76	**	0,40	ns	2,46	**
	24h	1,71		1,66		0,42		0,41		3,36	
Interacción	'Manzanilla de Sevilla' 4 h	1,86	*	1,30	ns	0,40	***	0,19	ns	3,16	ns
	'Manzanilla de Sevilla' 24 h	1,78		1,83		0,44		0,33		3,61	
	'Hojiblanca' 4 h	0,80		0,96		1,12		0,61		1,76	
	'Hojiblanca' 24 h	1,78		1,49		0,40		0,50		3,12	

Indicar además, que para las distancias **D1** y **D3** se han encontrado diferencias significativas para la interacción entre ambos factores. Hay que destacar que no se han observado diferencias significativas para la distancia desde el límite exterior del endocarpo hasta el último hueco encontrado (**D4**), para ninguno de los factores analizados.

#### **2.2.4.- DISCUSIÓN.-**

En este trabajo, se han analizado un total de 20 parámetros cuantitativos (antes y después del proceso histológico), con objeto de cuantificar objetivamente los daños por *molestado inducido* en aceituna de mesa, así como las diferencias entre dos variedades (Manzanilla de Sevilla y Hojiblanca) y tiempos desde el impacto (4 y 24 horas).

##### **2.2.4.1.- Intensidad de color de las zonas dañadas.-**

El índice de color empleado no ha corroborado las diferencias observadas entre variedades y tiempos, realizada de forma cualitativa en esos mismos cultivares antes del proceso histológico (ver epígrafe 2.1.3.2.2. del capítulo 2.1. de esta tesis). Por lo tanto, este índice no parece ser un buen parámetro para discriminar de forma cuantitativa entre distintos genotipos y/o variedades por su sensibilidad al molestado, ya sea provocado por la recolección mecánica o por otro sistema.

En otros estudios (Glozer *et al.*, 2008) se han empleado colorímetros para cuantificar el pardeamiento de la zona dañada en ‘Manzanilla de Sevilla’. Sin embargo, la metodología presentó la dificultad de que la zona medida por el colorímetro fue mayor que la zona afectada (molestado), produciendo reflejos y “confundiendo” al instrumento de medida. Concluyen, que resultaría mejor método la evaluación visual.

Por otro lado, el índice de molestado propuesto por Jiménez-Jiménez *et al.*, 2012, basado en la reflectancia a distintas longitudes de onda, obtenidas mediante un espectrofotómetro, ha permitido encontrar diferencias entre variedades de aceituna de mesa. La intensidad del molestado según este índice, fue mayor para ‘Manzanilla de Sevilla’, seguida de ‘Hojiblanca’ y ‘Gordal Sevillana’. Estos mismos autores, han observado que existe una relación lineal entre índices de molestado basado en categorías visuales (medida subjetiva) e índices basados en imágenes digitalizadas (escandallo digital) (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011).

#### 2.2.4.2.- Área de las zonas dañadas.-

Según disposiciones de los estándares comerciales para aceituna de mesa, publicadas por el Consejo Internacional del aceite de oliva (IOOC, 2009), se considera aceituna molestada, aquel fruto con manchas en la piel de dimensiones superiores a  $9 \text{ mm}^2$ , que pueden o no penetrar en el mesocarpio de los frutos. Esta información resulta muy útil para diseñar los equipos de recolección, clasificación o empaquetado.

Si bien estas indicaciones están referidas a frutos ya procesados, en nuestro estudio este umbral ha sido ampliamente superado para ambas variedades y tiempos analizados, tanto para el área total (AT) como para el área de mayor intensidad de daño (AO). Aún en el caso del menor AO encontrado ('Hojiblanca' a las 4 horas ( $9,71 \text{ mm}^2$ )) se superó el umbral mínimo establecido (Tabla 51). Estos resultados indican que ninguno de los frutos con *moleestado inducido* de nuestro estudio, de ambos cultivares, serían óptimos para su comercialización. Aunque el proceso de aderezo disimula las manchas superficiales de moleestado (Segovia-Bravo *et al.*, 2011) los daños permanecen después del proceso (ver epígrafe 2.1.3.2.3. del capítulo 2.1. de esta tesis), pudiendo superar estos umbrales.

Otros estudios en frutos frescos de dos variedades de aceituna de mesa (Saracoglu *et al.*, 2011, mostraron que la superficie de impacto y la altura de caída afectaban significativamente a las áreas y volúmenes de los frutos molestados, debido a las diversas capacidades de amortiguación del material utilizado. Para uno de los cultivares se superó el umbral establecido por IOOC (2009) a partir de 0,50 m, independientemente de la superficie de impacto. Para el otro se necesitaron mayores alturas para superaran el umbral de daño.

En otras especies como manzana, patata y nectarina existen investigaciones que relacionan la energía de impacto y la probabilidad de superar los umbrales comerciales de área dañada, mediante modelos estadísticos (Bollen *et al.*, 2001).

#### 2.2.4.3.- Efecto del tiempo tras el golpe en los parámetros estudiados.-

El factor tiempo (número de horas tras el golpe) ha sido altamente significativo en la mayoría de los parámetros analizados. En general, a las 24 horas se ha observado un incremento en el área afectada y un mayor número de huecos en dicha área. Del total de parámetros analizados en las zonas dañadas, 12 de ellos presentan diferencias significativas entre las 4 y las 24 horas después de producirse el impacto (AT, AO, H<sub>Z3</sub>, H<sub>Z5</sub>, H<sub>Z7</sub>, H<sub>Z22</sub>, H<sub>Z4</sub>, H<sub>Z6</sub>, H<sub>ZT</sub>, H<sub>50</sub>, H<sub>75</sub> y PH<sub>50</sub>) (Tablas 51, 54 y 55). Estos resultados



revelan que, los procesos desencadenados tras el impacto, tuvieron más tiempo para desarrollarse en frutos fijados a las 24 horas del golpe, de forma que aumentó tanto el área del mesocarpo afectada, como el número de huecos (ruptura celular) encontrados en la zona molestada.

Estos resultados coinciden, en parte, con estudios llevados a cabo por investigadores de la Universidad de Córdoba, utilizando análisis de imágenes para la evaluación del molestado en ‘Manzanilla de Sevilla’ (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011). En dichos trabajos el oscurecimiento por molestado aumentaba de forma logarítmica con el tiempo (primeras dos horas), aunque ellos lo atribuían principalmente a un aumento en la intensidad de color (tonalidad más oscura) de la superficie afectada por la mancha, más que al incremento de la superficie dañada.

En otros trabajos realizados por los mismos investigadores, se obtuvo una alta correlación entre el volumen del molestado y la energía del impacto (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2012). El volumen de la zona molestada se calculó, con la ayuda de un calibre digital, en base al procedimiento propuesto por Lewis *et al.* (2007). Este método, considera la superficie exterior molestada como una elipse con sus dos ejes principales que, junto con la profundidad de la zona dañada, permite obtener el área y volumen dañado. ‘Manzanilla Sevilla’ presentó un mayor daño, seguida de ‘Gordal Sevillana’ y ‘Hojiblanca’. Los procesos oxidativos se manifestaron durante la primera hora, siguiendo una tendencia exponencial. Mediante las reacciones de oxidación implicadas, se ha podido estudiar la evolución del molestado (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2012).

Otros trabajos realizados por Saracoglu *et al.*, 2011 muestran que los valores para el área y volumen molestado a las 24 horas del impacto, fueron superiores a medida que se incrementaban la altura y dureza de la superficie impactada.

Desde el punto de vista de la calidad, nuestros resultados confirman que el tiempo es importante en la evolución de los daños provocados por un golpe inducido, ya que incide en la depreciación de los frutos. Las manchas superficiales, en recolección mecanizada, comienzan a aparecer incluso a los 30 minutos tras el golpe (Castro-García *et al.*, 2010). Por lo tanto, estos daños podrían ser considerados por la industria como inadmisibles, siendo más difícil su eliminación en el proceso de aderezo.

A efectos prácticos, y de cara a la recolección mecanizada, los resultados obtenidos corroboran los trabajos de otros autores sobre la importancia del tiempo entre recolección y procesado en lejía sea mínimo. Los tiempos superiores a 2 horas, desde la recolección hasta la inmersión en lejías de transporte (precocido), provocan un

moleestado demasiado intenso, que resulta difícil de eliminar con el posterior cocido y fermentación de las aceitunas (Rejano *et al.*, 2008). Jaramillo *et al.*, 2011, han podido corroborar, a escala industrial, los resultados obtenidos por Rejano *et al.*, 2008. Los mejores resultados se han obtenido en aquellos tratamientos en los que se ha utilizado para el cocido de las aceitunas una solución de lejía a 18 °C, sin reposo previo desde la recolección.

Actualmente, se recomienda la introducción de los frutos procedentes de recolección mecanizada en una solución fría (8-10 °C), en un periodo de tiempo inferior a dos horas desde su recolección, para detener los procesos oxidativos que se inician al golpearse la aceituna (Hernández, 2010).

El fenómeno conocido como moleestado se debe, por lo tanto, a determinados procesos tanto físicos como bioquímicos. Los cambios físicos, debidos a los golpes, produjeron una ruptura celular con presencia de huecos/grietas a lo largo del mesocarpo (ver epígrafe 2.1.3.2.3. del capítulo 2.1. de esta tesis). Posteriormente, se desencadenaron procesos bioquímicos y metabólicos que están relacionados con el oscurecimiento (color marrón), localizados tanto en la superficie de los frutos como a lo largo del mesocarpo.

En otros frutales, como en peras, el fenómeno de pardeamiento enzimático es más elevado en la piel que en la pulpa (Macheix *et al.*, 1990). Estudios histológicos realizados por Crisosto *et al.* (1993), en frutos de melocotones afectados por decoloración en la piel, mostraron que los daños fueron específicos de las células del exocarpo, con presencia de grietas en la cutícula de tamaño variable, asociadas a la aparición de manchas marrones y/o negras. Por el contrario, el tejido del mesocarpo no se vio afectado, ni tampoco hubo ningún daño en las paredes celulares.

Trabajos realizados, mediante microscopia electrónica en manzana, mostraron que los daños por *moleestado inducido* se localizan en el parénquima, bajo la epidermis, colénquima e hipodermis de los frutos dañados (Mitsuhashi-Gonzalez *et al.*, 2010).

Todos estos procesos, que comienzan con el golpe, provocan con el tiempo mayores daños. Los resultados de nuestro estudio confirman este hecho. A las 24 horas se produce un incremento del tamaño de las manchas (mayores valores de **AT** y **AO**) (Tabla 51) y un aumento en el número de huecos (**H<sub>Z3</sub>**, **H<sub>Z5</sub>**, **H<sub>Z7</sub>**, **H<sub>Z2</sub>**, **H<sub>Z4</sub>**, **H<sub>Z6</sub>**, **H<sub>ZT</sub>**, **H<sub>50</sub>**, **H<sub>75</sub>** y **PH<sub>50</sub>**) (Tablas 54 y 55).

Los cambios que se producen tras el golpe se asemejan a los que suceden de forma natural en el proceso de maduración de los frutos: reblandecimiento por

modificación/degradación celular y pérdida de textura por cambios en la composición de los polisacáridos de la pulpa (Mafra *et al.*, 2006), previamente descritas en olivo (Jiménez *et al.*, 2001a; Jiménez *et al.*, 2001b) y otras frutas como manzanas (Percy *et al.*, 1997) o albaricoque (Femenia *et al.*, 1998).

Mediante microscopía electrónica se han estudiado los cambios estructurales en tres etapas de maduración (color verde, cereza y negro) de una variedad de aceituna de mesa (Mafra *et al.*, 2001). Se comprobó que, a medida que avanzaba la maduración, en el exocarpo y mesocarpo de los frutos se produjo un incremento en la separación de las células de la región de la laminilla media, provocando una pérdida de textura. La textura en los frutos está influenciada por las propiedades químicas, físicas y estructurales de las paredes celulares que, a través de su adhesión proporcionan resistencia mecánica y protección a los frutos (Brett y Waldron 1996, Harker *et al.*, 1997).

Los espacios intercelulares (grietas) encontrados en zonas dañadas de la variedad ‘Golden Delicious’, observados mediante microscopía electrónica a las 48 horas tras el golpe inducido, aumentaron con el grado de madurez de los frutos (Mitsuhashi-Gonzalez *et al.*, 2010).

Todo esto hace suponer que, tras el golpe, se produce una maduración localizada que afecta al color y, posiblemente, a la firmeza de los tejidos. Además podría influir en las separaciones entre células, que se verían amplificadas por el efecto mecánico del impacto. Si esta maduración se produce de forma acelerada, cuanto más tiempo transcurra, se producirá un mayor desarrollo de los procesos antes mencionados. Esto confirmaría el incremento del número de roturas celulares (huecos) y tamaño de las manchas obtenidas a las 24 horas en las zonas dañadas.

El principal componente de la adhesión intercelular es el grado de contacto intercelular, que está determinada por la forma y disposición de las células, pérdida de agua y tamaño o ausencia de espacios intercelulares. Estos factores cambian en la fruta madura, donde aparecen espacios de aire más grandes y disminución del contacto intercelular (Harker y Sutherland, 1993), permitiendo la deformación creciente del tejido cuando se produce una fuerza externa.

#### **2.2.4.4.- Efecto de las variedades e interacción cultivar/hora en los parámetros analizados.-**

En relación con las variedades analizadas, se han observado diferencias significativas entre ‘Manzanilla de Sevilla’ y ‘Hojiblanca’ en seis de los parámetros analizados ( $H_{Z3}$ ,

**H<sub>ZT</sub>**, **H<sub>50</sub>**, **D1**, **D3** y **DT**) (Tablas 54, 55 y 56). No obstante, considerando solo las medidas hechas a las 4 horas, ‘Manzanilla de Sevilla’ presenta además, una mayor área total afectada (**AT**) que el cultivar Hojiblanca (Tabla 52). Por el contrario, para este mismo parámetro, ‘Hojiblanca’ presenta un valor superior a las 24 horas (Tabla 53).

Los resultados obtenidos para los parámetros **H<sub>Z3</sub>**, **H<sub>50</sub>** y **H<sub>ZT</sub>** en ‘Manzanilla de Sevilla’ han resultado significativamente superiores a ‘Hojiblanca’, presentando un mayor número total de huecos (**H<sub>ZT</sub>**) localizados en la parte superior de los cortes histológicos (**H<sub>50</sub>**) (Tablas 54 y 55).

En cuanto a las distancias medidas, resaltar como interesante que, la distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado (**D3**) es significativamente diferente entre cultivares, siendo menor para ‘Manzanilla de Sevilla’ (Tabla 56). Esto pone de manifiesto que, los mayores daños físicos (huecos/grietas) se encuentran en los primeros milímetros, cerca de la epidermis de los frutos. Es importante señalar que, para este parámetro los daños son mayores a las 4 horas, a diferencia del resto que aumentan con el paso del tiempo (24 horas), como se ha indicado anteriormente (Tabla 56).

Las características celulares de los tejidos exteriores del fruto, tales como el grosor de la cutícula, tamaño y forma celular, se han relacionado en interacciones con factores externos que afectan a la calidad del fruto (Jefree, 2006; Romig, 1995; Sekse, 1995). Estudios histológicos realizados por Hammami y Rapoport (2012), muestran que ‘Manzanilla de Sevilla’ presenta una cutícula más delgada con respecto a ‘Arbequina’, ‘Hojiblanca’ y ‘Picual’. Estos resultados pueden explicar en parte, la sensibilidad de este cultivar al moleestado.

El hecho de que los daños físicos (ruptura celular) se encuentren localizados en la parte superior de la zona dañada (**H<sub>50</sub>**) y que ‘Manzanilla de Sevilla’ presente un mayor número huecos totales (**H<sub>ZT</sub>**) resulta *a priori* bastante interesante. Estos resultados, junto con la diferencia encontrada en ambos cultivares (menor en ‘Manzanilla de Sevilla’) para la **D3**, confirman que este cultivar presenta mayor susceptibilidad que ‘Hojiblanca’ al fenómeno del moleestado. Estos parámetros, junto con el grosor de la cutícula indicado por Hammami y Rapoport (2012), podrían emplearse como criterios de selección objetivos para discriminar entre variedades y/o genotipos por su mayor o menor susceptibilidad al moleestado. Si bien habría que confirmar estos resultados con un mayor número de variedades y tipos de moleestado (*inducido y no inducido*, en recolección manual, mecánica, etc.), resulta particularmente interesante ya que, hasta la fecha, la información sobre moleestado se fundamenta en observaciones empíricas del

exterior del fruto. En otras especies frutales, existen mayor número de estudios sobre la susceptibilidad al molestado: Pasini *et al.*, 2004 demostraron que las manzanas ‘Fuji’, son menos resistentes al impacto mecánico que las manzanas ‘Gala’. Pang *et al.*, 1996, encontraron que las variedades Granny Smith, son más susceptibles a los golpes que las ‘Braeburn’. Schulte-Pason *et al.*, 1992, clasificaron variedades de manzana según el grado de susceptibilidad a sufrir daños.

Por otro lado, la interacción entre variedad y tiempo no fue significativa para los distintos caracteres relacionados con el número de huecos, excepto para **H<sub>Z9</sub>** (número de huecos que entrecruzan el quinto arco de circunferencia (**Z9**)) (Tabla 54), **D1** (distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha) y **D3** (distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado) (Tabla 56). ‘Manzanilla de Sevilla’ presentó para los dos primeros, un valor superior a las 4 horas y ‘Hojiblanca’ a las 24 horas tras el golpe. Para el carácter de **D3** sucedió al revés, ‘Hojiblanca’ mostró distancias superiores a las 4 horas y ‘Manzanilla de Sevilla’ a las 24 horas (Tabla 56). Al contrario que el resto de parámetros, estos son los únicos valores que decrecen con el tiempo.

En resumen, en este trabajo se ha pretendido, por primera vez, cuantificar de forma objetiva los cambios anatómicos que se producen por el fenómeno del molestado inducido en aceituna de mesa. Para ello, se han definido y medido 20 parámetros diferentes relacionados con el área del mesocarpo afectada, intensidad de color de dicha área, número y ubicación de los huecos que surgen en el mesocarpo como consecuencia del golpe recibido. Se ha evaluado el efecto del tiempo transcurrido y de la variedad en dichos parámetros. Al disponer de poca información contrastada sobre el tema, estos resultados constituyen un avance en el conocimiento del molestado. Además, algunos de los parámetros estudiados podrían emplearse como herramienta para discriminar variedades de mesa y nuevos genotipos por su sensibilidad al molestado. Esto resulta especialmente interesante para su aplicación en programas de mejora.

El estudio histológico en otros cultivares, podría ayudar a mejorar la selección de variedades más adecuadas para la recolección mecanizada que, actualmente se lleva a cabo únicamente en aquellas variedades que presentan una baja sensibilidad a los golpes (Ferguson, 2006; Kouraba *et al.*, 2004), debido a los altos porcentajes de fruto dañado en las variedades todavía no estudiadas.

### 3.1.- DISCUSIÓN GENERAL.-

En las últimas décadas se han producido grandes e importantes cambios en la forma de cultivar el olivo, cambios que han generado la necesidad de desarrollar nuevas variedades que se adapten a los nuevos sistemas de cultivo, como por ejemplo, los sistemas de alta densidad que requieren de cultivares de escaso vigor, baja vecería, rápida entrada en producción y adaptación a sistemas de recolección mecanizada. Las variedades tradicionales no cumplen muchos de estos nuevos requerimientos. Aunque muchos de los cambios han surgido fundamentalmente en el olivar de aceite, la aceituna de mesa no es ajena a los nuevos sistemas de cultivo y por lo tanto también necesita de nuevas variedades para poderse adaptar.

Con el fin de obtener nuevas variedades de aceituna de mesa, en el año 2003 se inició en la Universidad de Sevilla, en colaboración con el IFAPA, un programa de mejora genética por cruzamiento. Desde entonces, se han realizado 22 cruzamientos intraespecíficos, además de polinizaciones libres, obteniendo más de 2.000 genotipos que se encuentran actualmente establecidos en campo. Se han empleado como progenitores variedades principales de aceituna de mesa y de aceite, entre las que destacan ‘Manzanilla de Sevilla’, ‘Gordal Sevillana’, ‘Arbequina’, ‘Changlot Real’ y ‘Ascolana Tenera’, entre otras. Los genotipos que han ido saliendo de juvenilidad se han ido evaluando a lo largo de varias campañas y en el año 2011 se han propagado las primeras 40 preselecciones.

Este trabajo se enmarca dentro del mencionado programa y ha tenido como objetivo el estudio de la variabilidad, repetibilidad, y posibles correlaciones de 14 parámetros relacionados con la calidad de la aceituna de mesa, en 407 nuevos a lo largo de cuatro campañas (capítulos 1.1. y 1.2.). Se han analizado además los componentes de la varianza y la influencia de los progenitores en los caracteres evaluados. Los capítulos 2.1. y 2.2. se han centrado en el estudio del molestado, fenómeno de gran importancia en aceituna de mesa ya que deprecia notablemente la calidad y es uno de los principales limitantes a la implantación de sistemas de recolección mecanizada. El objetivo de estos capítulos ha sido poner a punto de una metodología histológica de evaluación cualitativa y cuantitativa del molestado en frutos frescos (sin aderezar) y aderezados de aceituna de mesa, tras un golpe (*inducido y no inducido*).

### 3.1.1.- Evaluación de la variabilidad e influencia de los progenitores.-

Las especies propagadas vegetativamente, como es el caso del olivo, suelen generar elevadas segregaciones cuando se reproducen sexualmente ya que son por lo general altamente heterocigóticas (Allard, 1960). Los resultados de este trabajo confirman esta observación. Se han obtenido para todos los caracteres evaluados una amplia variabilidad (Tablas 8 a 22 y Figuras 12 a 26), excepto para *índice de forma del fruto* y *humedad del fruto*. Los parámetros que han mostrado mayor segregación han sido *producción*, *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *índice de madurez*, *textura de la pulpa*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco* y los que menor *índice de forma del fruto* y *humedad del fruto*. Esta segregación proporciona genotipos potencialmente interesantes para obtener nuevas variedades de aceituna de mesa. Resultados similares se han conseguido en otros programas de mejora de olivo, para caracteres morfológicos del fruto (Bellini *et al.*, 2002a; Bellini *et al.*, 2002b; Ersoy *et al.*, 2008; Fontanazza *et al.*, 1999) y otros parámetros como contenido de fenoles, fuerza de retención del fruto y ácidos grasos (El Riachy *et al.*, 2012a; El Riachy *et al.*, 2012b; León *et al.*, 2005a; León *et al.*, 2011a; León *et al.*, 2004e).

Para caracteres como *producción acumulada* (Tabla 8), *peso del fruto* (Tabla 10), *relación pulpa-hueso* (Tabla 11) y *rendimiento graso sobre peso seco* (Tabla 21), las progenies han mostrado un rango de variabilidad ligeramente superior al obtenido en la evaluación de algunas colecciones varietales (Del Río *et al.*, 2005a; Del Río *et al.*, 2005b; Tous *et al.*, 2005; Tous y Romero, 2005). Para algunos de los caracteres y periodos considerados, los valores medios alcanzados por la progenie han superado a los progenitores. Estos resultados coinciden con los publicados para porcentaje de la pulpa (Ersoy *et al.*, 2008), peso del fruto, humedad del fruto y contenido de aceite (León *et al.*, 2004d).

Para todos los parámetros evaluados, excepto *producción* e *índice de madurez*, el análisis de la varianza reflejó una fuerte influencia del genotipo (Tabla 23), lo que indica una importante componente genética de estos caracteres. La evaluación de un mayor número de individuos dentro del mismo cruzamiento, resulta eficaz para obtener una alta variabilidad. La fuerte influencia del “genotipo dentro del cruzamiento” alcanzada en este trabajo para todos los parámetros, excepto *producción* (Figura 27) confirma esta afirmación. En programas de mejora de olivo para aceite y en



evaluaciones de olivo silvestre, existen diversos estudios con conclusiones similares para estos y otros caracteres que avalan los resultados obtenidos (Belaj *et al.*, 2011; León *et al.*, 2008; León *et al.*, 2004a; Zeinanloo *et al.*, 2009).

La partición de la varianza para calcular la repetibilidad, permite predecir el comportamiento de un carácter mediante observaciones previas (Falconer, 1989). Los parámetros poco variables, muy influenciados por el genotipo y con una alta repetibilidad, como son *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco* (Tabla 23), serían los más indicados para evaluar en la primera fase de *progenie*, cuando se cuenta con un número elevado de genotipos con una sola repetición. En cambio, *producción* y *textura de la pulpa* (Tabla 23), influenciados por el año o residual y una repetibilidad más baja, así como mayor complejidad de evaluación, se deberían realizar de forma más precisa en fases avanzadas (*preselecciones* o *selecciones avanzadas*), con más repeticiones, tal como indican otros autores para producción León *et al.* (2007).

Los cruzamientos entre variedades de interés son útiles para aumentar la probabilidad de encontrar genotipos que cumplan los objetivos marcados en un programa de mejora. En este trabajo, hemos observado diferencias significativas entre los valores medios de los diferentes cruzamientos, para todos los caracteres evaluados. Los genotipos de ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’ y ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’, presentan frutos con mayor *peso* y *relación pulpa-hueso* (Tabla 25). En selecciones avanzadas procedentes de cruzamientos entre variedades de mesa y aceite, Bellini *et al.* (2002b) obtuvieron valores superiores para estos mismos caracteres.

Se observa además, valores altos para *longitud del fruto*, *anchura de fruto*, *longitud del hueso*, *anchura del hueso*, *índice de madurez* y *humedad de la pulpa*. Por el contrario, la progenie de ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’ ha mostrado los menores valores para *peso del fruto* y *relación pulpa-hueso* (Tabla 25), *longitud* y *anchura de fruto* (Tabla 26) y *del hueso* (Tabla 27), *índice de madurez* (Tabla 27) y *rendimiento*, tanto *en fresco* como *en seco* (Tabla 28). En cruzamientos recíprocos de ‘Arbequina’ y ‘Manzanilla de Sevilla’ también se han observado diferencias significativas para algunos caracteres (Tablas 29 y 30). Parece que la contaminación por polen de otras variedades en el cruzamiento, aspecto detectado mediante marcadores moleculares en otras progenies (Díaz *et al.*, 2007; Rallo, 2001), pueda estar detrás de estas diferencias.



Al igual que en otros trabajos donde se evalúan caracteres del fruto (Lavee y Avidan, 2012; León y Rallo, 2002), se ha podido comprobar que los progenitores (*femenino* o *masculino*) influyen en la descendencia para algunos de los parámetros evaluados (Tablas 31 a 38). Por este motivo, la selección de los progenitores y la planificación de los cruzamientos son fundamentales para la eficiencia de un programa de mejora, avalando los resultados de este trabajo.

‘Gordal Sevillana’ presenta los mayores valores para todos los caracteres, como progenitor *femenino* (Tabla 31 a Tabla 34) y *masculino* (Tabla 35 a Tabla 38), aunque en este último caso no es tan evidente. Las excepciones son *índice de forma del fruto* (Tabla 32) y *textura de la pulpa* (Tabla 34), además de *producción* (Tabla 35) e *índice de forma del hueso* (Tabla 37) si se utiliza como progenitor masculino. La “dilución” de este efecto paterno puede deberse de nuevo a la contaminación por polen de otras variedades durante el cruzamiento, aspecto mencionado anteriormente (Díaz *et al.*, 2007; Rallo, 2001). Para *peso* y *anchura del fruto* las descendencias de ‘Gordal Sevillana’ presentan valores superiores y estadísticamente diferentes que el resto de los progenitores *femeninos* (Tablas 31 y 32, respectivamente) o *masculinos* (Tablas 35 y 36, respectivamente).

‘Arbequina’ se encuentra entre las madres con menores medias para todos los parámetros, excepto *producción* (Tabla 31), *textura de la pulpa* (Tabla 34) y *humedad del fruto* (Tabla 34). Utilizada como padre, los genotipos presentan bajo *peso de fruto* (Tabla 31) y *relación pulpa-hueso* (Tabla 35). A pesar de estos resultados, se incluyó como progenitor por su bajo vigor, elevada productividad, escasa vecería, buen rendimiento graso y rápida entrada en producción (Barranco, 2008).

### 3.1.2.- Simplificación del proceso de evaluación.-

En las primeras fases de evaluación de un programa de mejora de olivo (*progenies*), se suele disponer de un elevado número de genotipos con una única repetición (un árbol por genotipo) (Rallo *et al.*, 2011b). La evaluación individualizada de cada uno de dichos genotipos es, sin duda, uno de los aspectos más limitantes en los programas de mejora, máxime cuando se pretende evaluar un número alto de parámetros agronómicos más o menos complejos.

Por este motivo, en los actuales programas de mejora de olivo se están buscando procedimientos que faciliten y simplifiquen la evaluación de las progenies obtenidas (Rallo *et al.*, 2011). En este trabajo se ha estudiado la posibilidad de implementar estrategias de *selección indirecta* de unos parámetros a través de otros correlacionados y se ha determinado el *tiempo mínimo de evaluación* que requieren los diferentes parámetros estudiados para poder hacer una correcta selección de genotipos. Esta información, junto a la obtenida en el apartado anterior sobre repetibilidad e influencia del genotipo, nos ha permitido seleccionar un *número mínimo* de parámetros consistentes y relativamente fáciles de medir, para evaluar de forma rutinaria en la fase de progenies dentro del programa de mejora de aceituna de mesa de la Universidad de Sevilla.

Al igual que en otros estudios realizados sobre parámetros morfológicos del fruto (Fanizza, 1982; Fontanazza *et al.*, 1999; León *et al.*, 2004b), se ha comprobado que es posible realizar una *selección indirecta* atendiendo a dos parámetros (*peso del fruto* y *rendimiento graso sobre peso seco*), en lugar de los 14 planteados inicialmente (Tabla 39). Esta drástica reducción permitirá aumentar la eficiencia del programa, pudiendo ampliar la evaluación a un mayor número de individuos. Sólo con evaluar el *peso del fruto* se podría prescindir de la medición de la *relación pulpa-hueso*, *peso del hueso* e *índice de forma* de fruto y hueso. Se evitaría así no solo la tarea del deshuesado, sino la tediosa evaluación de los parámetros de longitud y anchura de hueso y fruto, que implican 200 mediciones por genotipo. No obstante, para la *relación pulpa-hueso*, dado que se trata de un carácter especialmente interesante en aceituna de mesa y al no ser particularmente alto el coeficiente de correlación con el *peso del fruto* (0,63), es necesario valorar la conveniencia de su medición directa. En el caso de *rendimiento graso sobre peso seco* (Tabla 39), debido a su baja correlación con el resto de parámetros, resulta recomendable una evaluación directa. En relación a la *textura de la pulpa*, parámetro que se ha analizado por primera vez en progenies de olivo, a pesar de que los bajos coeficientes de correlación obtenidos con el resto de parámetros indican que es necesaria su evaluación directa, el elevado valor del residual que se ha observado en la partición de la varianza (Tabla 23), desaconsejan su evaluación hasta que no se optimice el método de análisis.

En programas de mejora de olivo, la evaluación de progenies es bastante compleja debido a que algunos caracteres tardan en estabilizarse dos o tres años (Lavee, 1990).

Mediante los coeficientes de correlación para las diferentes cosechas y parámetros analizados se ha calculado el *tiempo mínimo para la selección* en cada carácter, estableciéndose el número mínimo de años necesarios para su correcta evaluación. La alta correlación y consistencia entre cosechas para algunos caracteres, confirma que los datos de la primera campaña son indicativos de los sucesivos años.

Los caracteres que pueden ser considerados como indicadores eficaces para una selección temprana son *peso*, *anchura*, *índice de forma* y *humedad del fruto*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco* (Tabla 40). En base a estos resultados se podría comenzar a seleccionar, o descartar genotipos, con solo el primer año de evaluación. Estos resultados coinciden con otros trabajos llevados a cabo por De la Rosa *et al.* (2008) y León *et al.* (2004c) para otros parámetros, dentro de un programa de mejora para aceite aunque el número de genotipos y años considerados en este trabajo han sido mayores. La alta repetibilidad obtenida para *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *rendimiento graso sobre peso fresco* y *sobre peso seco* confirman estos resultados (Tabla 23). Sin embargo, para *producción*, *índice de madurez* y *textura de la pulpa* es preciso aumentar el periodo de evaluación y, probablemente el número de individuos (Tabla 40). Estos caracteres deben evaluarse en fases más avanzadas.

En definitiva, con la obtención del *tiempo mínimo* necesario para los parámetros evaluados, se puede reducir notablemente no sólo el coste en la determinación al reducir campañas a evaluar, sino también la reducción del número de años que permanecen las progenies en campo. La gran cantidad de progenies evaluadas y el elevado número de años considerados en este trabajo avalan la consistencia de estos resultados.

### **3.1.3.- Puesta a punto de una metodología para el análisis histológico del fenómeno del molestado en aceituna de mesa.-**

La apariencia externa de la aceituna de mesa es el factor más decisivo en la determinación de su calidad (Riquelme *et al.*, 2008). Los golpes que se producen durante la recolección (manual o mecánica), provocan daños en los frutos (*molestado*) y, por lo tanto, una disminución en la calidad final del producto. Resulta fundamental tener en cuenta estos daños para implantar a corto plazo la recolección mecanizada en el sector.

El molestado en aceituna de mesa ha sido estudiado desde diferentes perspectivas. Gran parte de los trabajos se centran en evaluar su principal origen, que suele ser la eficiencia en los sistemas de recolección mecánica y, en menor medida, la manual (Castro-García *et al.*, 2009). Otros estudios desarrollan procedimientos post-cosecha que minimicen este daño (Glozer *et al.*, 2008; Jaramillo *et al.*, 2011; Segovia-Bravo *et al.*, 2011). Muchos de ellos hacen referencia a la zona superficial del daño (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011; Morales *et al.*, 2007), lo que hace imposible determinar si los daños afectan sólo a la capa exterior de células.

Tal como indican Brooks *et al.* (1963) y D'Ambrogio (1986), se ha comprobado en 'Manzanilla de Sevilla' que es posible la utilización de un líquido de fijación como procedimiento para conservar frutos molestados hasta su posterior procesamiento histológico. Prueba de su efectividad es que manchas que aparecen como consecuencia de un *golpe inducido* permanecen incluso después de un mes en dicho fijador (Figura 37).

La descripción cualitativa de los daños externos por *molestado inducido* que hemos realizado, indica que las manchas son visibles desde el momento del impacto y que, a medida que avanza el tiempo (24 horas), se produce un aumento en la intensidad de color de las zonas afectadas pero sin incremento en el tamaño de las mismas (Figura 46). Estos resultados coinciden con Castro-García *et al.* (2010), que observó daños apreciables a los 30 minutos del golpe por recolección mecanizada y con Pastor *et al.* (1979), que comprobó un oscurecimiento del color verde superficial en un elevado porcentaje de aceitunas a las 24 horas de ser golpeadas.

La descripción cualitativa de los daños internos en porciones de fruto fijadas antes del proceso histológico, para frutos de 'Manzanilla de Sevilla' y 'Hojiblanca' (campaña 2009), muestra zonas irregulares que se aprecian siempre hacia el interior de los frutos (Figura 47). Estos resultados coinciden en parte con estudios realizados en otros frutales (Mitsunashi-González *et al.*, 2010). El motivo es que las capas más exteriores están compuestas de células más resistentes (Taiz y Zeiger, 2002), transmitiendo el daño a la parte interior (parénquima), que es donde se aprecian las rupturas celulares. Se ha comprobado que estos daños (área afectada, intensidad de color y rupturas celulares) resultan superiores en 'Manzanilla de Sevilla' que en 'Hojiblanca', incrementándose

con el tiempo (mayor a las 24 horas) (Figura 47). Preparaciones histológicas posteriores han confirmado las conclusiones obtenidas en las descripciones cualitativas (Figura 48).

La pérdida de grosor de las paredes celulares en las zonas dañadas es la alteración anatómica más frecuente vinculada al molesto, independientemente del origen del golpe recibido (*molesto no inducido e inducido*). Se observa sólo a las 24 horas tras el impacto y hacia el interior de los cortes histológicos, sin afectar a la epidermis, siendo más intensa en frutos aderezados, debido probablemente al tipo de procesado (Figura 49). Estudios histológicos en manzana han mostrado la misma localización de los daños por golpe en el fruto (Mitsubishi-González *et al.*, 2010). Sin embargo, Crisosto *et al.* (1993) observaron en melocotón el efecto contrario: daños en el exocarpo y el mesocarpo intacto. Esta pérdida de grosor, ha sido relacionada en otros trabajos con la concentración de lejía utilizada en dicho proceso (Marsilio *et al.*, 1996), afectando a la textura de los frutos (Maldonado *et al.*, 2011; Rejano *et al.*, 2008), provocando una merma en la calidad final.

Basándonos en los valores medios e intervalos de confianza del *índice de molesto*, hemos comprobado que el proceso de aderezo reduce la apreciación visual de las manchas (Tablas 46 y 47). Esto coincide con lo obtenido por Segovia-Bravo *et al.* (2011), que observaron una mejora del color en las áreas dañadas tras el aderezo. Además, la alta correlación del índice del molesto antes y después del aderezo, permitiría una preselección de genotipos, siendo posible una preselección de genotipos en función de los datos obtenidos antes del aderezo. Esto permitiría reducir el número de individuos a evaluar, disminuyendo costes y necesidades de mano de obra (Rallo, 1994a). Las diferencias significativas en cuanto a la susceptibilidad al molesto entre genotipos y variedades aderezadas, permiten establecer grupos homogéneos en función de su sensibilidad al molesto (Tablas 48 y 49).

El *índice categórico* utilizado en este estudio, similar al utilizado por otros autores (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2011; Segovia-Bravo *et al.*, 2007), no resulta idóneo para estudiar el molesto. En algunos casos las categorías visuales asignadas la zona externa dañada, según el tamaño de las manchas, no se corresponden con el daño histológico interno (Figura 53). Por este motivo apenas existen métodos estandarizados y objetivos para medir la influencia del molesto.

### 3.1.4.- Evaluación cuantitativa del fenómeno del molestado en frutos de aceituna de mesa.-

Se han cuantificado, por primera vez, los cambios anatómicos en las zonas dañadas a través de 20 parámetros, evaluando el efecto de la variedad (Manzanilla de Sevilla y Hojiblanca) y el tiempo (4 y 24 horas), tras un *golpe inducido*.

Al igual que las observaciones histológicas, la cuantificación del parámetro *intensidad de color* ha confirmado que el índice categórico no es adecuado para la evaluación del molestado en aceituna de mesa. Para este parámetro no se han encontrado diferencias significativas, ni entre cultivares, ni entre tiempos (Tabla 50). Esto confirma que dicho índice no es un buen indicador para discriminar, de forma cuantitativa, las variedades por su sensibilidad al molestado. En cambio, otros autores (Jiménez-Jiménez *et al.*, 2012), sí han obtenido diferencias entre variedades, con índices basados en espectrofotometría.

Mediante la cuantificación de parámetros relacionados con las áreas dañadas y el número de rupturas celulares originadas por el golpe, se ha podido comprobar que el tiempo ha sido un factor decisivo en el incremento de los daños (Tablas 51, 54 y 55). A medida que avanza (24 horas), se observa un aumento significativo del área afectada por el daño, mayor número de rupturas celulares en dicha zona y oscurecimiento de la zona afectada. Estos resultados revelan que los procesos iniciados tras el golpe tienen más tiempo para desarrollarse. Por este motivo, el tiempo entre la recolección en campo y procesado en lejía debe ser mínimo, tal como apuntan otros autores (Hernández, 2010; Jaramillo *et al.*, 2011; Rejano *et al.*, 2008).

Se ha comprobado que ‘Manzanilla de Sevilla’ es más sensible al molestado que ‘Hojiblanca’, ya que presenta un mayor número de rupturas celulares localizadas en la mitad superior de la zona dañada, cercana a la epidermis pero sin afectarla (Tablas 55 y 56). Esto parece ser debido al escaso grosor de su cutícula, descrito por algunos autores (Hammami y Rapoport (2011) y que en otros frutales se ha relacionado por sus interacciones con factores externos que afectan a la calidad del fruto (Jefree, 2006; Sekse, 1995).

Tres parámetros de fácil medición (Tablas 55 y 56), relacionados con las rupturas celulares y con su ubicación en las zonas dañadas, podrían utilizarse dentro del

programa de mejora como criterios de selección objetivos para discriminar variedades y/o genotipos por su mayor o menor susceptibilidad al molesto. Sería conveniente ampliar las investigaciones a otros cultivos y tipos de molesto (*inducido y no inducido*, recolección manual, mecánica, etc.), con el fin de seleccionar variedades más adecuadas a este tipo de recolección, que actualmente sólo se realiza en aquellas variedades con baja sensibilidad a los golpes (Ferguson, 2006; Kouraba *et al.*, 2004). En cambio, en otras especies frutales, existe un mayor número de estudios sobre susceptibilidad al molesto (Pang *et al.*, 1996; Pasini *et al.*, 2004; Schulte-Pason *et al.*, 1992).

### 3.2.- Conclusiones.-

1.- La mayoría de los 14 parámetros de fruto analizados ha presentado una alta variabilidad, proporcionando suficientes genotipos con características interesantes para la selección de nuevas variedades. La variación obtenida supera en muchos casos los límites de los progenitores y es similar, o incluso superior, al rango de valores publicados en muestras representativas de los Bancos de Germoplasma de referencia en olivo. Los parámetros que han mostrado mayor segregación han sido *producción*, *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *índice de madurez*, *textura de la pulpa*, *rendimiento graso sobre peso fresco y sobre peso seco* y los que menor *índice de forma del fruto y humedad del fruto*.

2.- Para todos los parámetros evaluados, excepto *producción* e *índice de madurez*, el genotipo fue el factor que más influyó en la varianza, lo que indica una importante componente genética en los caracteres analizados. La fuerte influencia del genotipo dentro del cruzamiento obtenida para todos los parámetros, excepto para *producción*, indica que la evaluación de un mayor número de individuos dentro del mismo cruzamiento, resulta más eficaz para obtener una alta variabilidad.

3.- En esta primera fase de evaluación de la progenie (elevado número de genotipos con una sola repetición), es preferible analizar los parámetros *peso del fruto*, *relación pulpa-hueso*, *rendimiento graso sobre peso fresco y sobre peso seco*, ya que son poco variables, están fuertemente influenciados por el genotipo y presentan una alta repetibilidad. La reducción del número de parámetros a evaluar en esta fase permite reducir el tiempo y optimizar los recursos dentro del programa. En cambio, la *producción* (elevado porcentaje de la varianza debido al año y baja repetibilidad) y *textura de la pulpa* (alto porcentaje debido al residual), se deben evaluar en fases más avanzadas (*preselecciones y selecciones avanzadas*).

4.- Se han encontrado diferencias significativas entre los diferentes cruzamientos para todos los caracteres evaluados. Los progenitores (*femenino* o *masculino*) influyen en la descendencia para algunos de los parámetros estudiados. Los resultados obtenidos demuestran que la elección de progenitores y cruzamientos es importante para modificar determinados parámetros en programas de mejora de aceituna de mesa.



5.- Las altas correlaciones entre los parámetros morfológicos del fruto permiten una *selección indirecta* de genotipos atendiendo exclusivamente al *peso del fruto*. De esta manera se evita el deshuesado y la evaluación de parámetros de medición laboriosa relacionados con la forma del fruto y el hueso, aumentando la eficiencia del programa y permitiendo analizar un mayor número de individuos. No obstante, para la *relación pulpa-hueso*, habría que valorar si una mayor precisión en el dato compensa el coste de su evaluación, ya que se trata de un carácter especialmente interesante en aceituna de mesa.

Las bajas correlaciones de la *textura de la pulpa* con el resto de caracteres y la poca consistencia entre cosechas, indican que debe de ser un parámetro a evaluar en fases más avanzadas del programa y con métodos más eficientes. Esto confirma los resultados del estudio de la varianza.

6.- Para *peso del fruto*, *anchura del fruto*, *índice de forma del fruto*, *índice de forma del hueso*, *humedad del fruto* y *rendimiento graso*, se puede hacer una *selección temprana* basándose en datos de una sola campaña, lo que supone un ahorro de tiempo y recursos. Por el contrario, *producción*, *índice de madurez* y *textura de la pulpa*, con bajos coeficientes de correlación entre años y escasa consistencia de dichos coeficientes entre cosechas, sería necesario un incremento de los años de evaluación.

7.- La metodología propuesta en este trabajo para el análisis histológico del “molestad” en fruto fresco (sin aderezar), basada en el corte, orientación y tinción de las zonas dañadas por los golpes, ha resultado ser adecuada para describir y cuantificar dicho fenómeno en aceituna de mesa. Se ha validado, además, un procedimiento de fijación para conservar los frutos dañados hasta su posterior procesado histológico, ya que se mantiene en el tiempo la visualización de las zonas dañadas.

8.- La descripción cualitativa del molestad revela la aparición de manchas superficiales, rotura de tejidos, pérdida de grosor de la pared celular y aumento de la coloración en la zona dañada del mesocarpio. Estos daños resultan superiores en ‘Manzanilla de Sevilla’ que en ‘Hojiblanca’ y aumentan con el tiempo (de 4 a 24 horas). La pérdida de grosor observada en los cortes histológicos de los frutos aderezados, ha demostrado que los daños celulares permanecen después del aderezo, aunque el color de la mancha apenas se visualice en el exterior. El procesado industrial empleado puede reducir los síntomas exteriores del molestad, pero no eliminarlos totalmente.

9.- La alta correlación del *índice de molestado* antes y después del aderezo permite una preselección de genotipos en función de los datos obtenidos previos al aderezo. Los individuos interesantes serían aquellos con menor índice de molestado en fruto fresco.

10.- La cuantificación de los cambios anatómicos a través de 20 parámetros relacionados con el área del mesocarpo afectada, número y ubicación de las rupturas celulares, revelan una mayor susceptibilidad al molestado en ‘Manzanilla de Sevilla’ que en ‘Hojiblanca’, confirmando las apreciaciones cualitativas. Con el tiempo (24 horas) aumenta el área afectada por el daño y el número de rupturas celulares en dicha área.

11.- De los 20 parámetros anatómicos estudiados se han seleccionado tres por su mayor discriminación de variedades con diferente susceptibilidad al molestado. Se trata de **D<sub>3</sub>** (distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado), **H<sub>ZT</sub>** (número total de huecos en cada corte histológico) y **H<sub>50</sub>** (número de huecos encontrados en la mitad superior). Su uso como criterios de selección dentro del programa de mejora permitiría estimar el grado de susceptibilidad al molestado de un determinado genotipo y/o cultivar.

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>A</b>	Variedad de olivo ‘Arbequina’
<b>ABT</b>	Alcohol Butílico Terciario
<b>ADN</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>AF</b>	Anchura del fruto en milímetros (mm)
<b>AH</b>	Anchura del hueso en milímetros (mm)
<b>A<sub>mf</sub></b>	Anchura máxima del fruto en milímetros (mm)
<b>A<sub>mh</sub></b>	Anchura máxima del hueso en milímetros (mm)
<b>ANOVA</b>	Análisis de la varianza (del inglés Analysis of variance)
<b>AO</b>	Área con mayor intensidad de daño en milímetros cuadrados (mm <sup>2</sup> )
<b>ASC x M</b>	Cruzamiento de variedades de olivo ‘Ascolana Tenera’ x ‘Manzanilla de Sevilla’
<b>AT</b>	Área total de la zona dañada en milímetros cuadrados (mm <sup>2</sup> )
<b>A x M</b>	Cruzamiento de variedades de olivo ‘Arbequina’ x ‘Manzanilla de Sevilla’
<b>a. C.</b>	antes de Cristo
<b>CHR x M</b>	Cruzamiento de variedades de olivo ‘Changlot Real’ x ‘Manzanilla de Sevilla’
<b>C</b>	Cosecha
<b>CAP</b>	Conserjería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Actualmente Conserjería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente
<b>cm</b>	centímetro
<b>COI</b>	Consejo Oleícola Internacional. También como <b>IOOC</b> Consejo Internacional del aceite de oliva (del inglés International Olive Oil Council) (en texto)
<b>CSIC</b>	Consejo Superior de Investigaciones Científicas
<b>CV</b>	Coeficiente de Variación

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>D1</b>	Distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la derecha en milímetros (mm)
<b>D2</b>	Distancia desde el radio central de cada corte histológico, hasta el hueco más alejado a la izquierda en milímetros (mm)
<b>D3</b>	Distancia desde la epidermis hasta el primer hueco encontrado en milímetros (mm)
<b>D4</b>	Distancia desde el límite del endocarpo hasta el último hueco encontrado en milímetros (mm)
<b>DT</b>	Distancia lateral total ( <b>D1+D2</b> ) en milímetros (mm)
<b>e<sub>ij</sub></b>	Interacción genotipo ‘i’ por año ‘j’, que representa el efecto residual
<b>Ej.</b>	ejemplo
<b>ETSIA</b>	Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
<b>et al.</b>	del latín <i>Et alii</i> , que significa “y otros”
<b>FAE</b>	Fijador histológico compuesto de formalina, ácido acético, 95% de etanol y agua destilada (10:5:50:35 v/v/v/v)
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Cloruro férrico
<b>Frec</b>	Frecuencia
<b>g</b>	gramos
<b>G</b>	Variedad de olivo ‘Gordal Sevillana’
<b>g<sub>i</sub></b>	Efecto del genotipo ‘i’
<b>G Libre</b>	variedad de olivo ‘Gordal Sevillana’ en polinización libre
<b>G x St.CAT</b>	Cruzamiento de variedades de olivo ‘Gordal Sevillana’ x ‘Santa Caterina’
<b>g/L</b>	gramos/litro
<b>h</b>	horas

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>ha</b>	hectáreas
<b>Hoj</b>	Variedad de olivo ‘Hojiblanca’
<b>HUM</b>	Humedad de la muestra en porcentaje (%)
<b>H<sub>ZT</sub></b>	Número total de huecos encontrados en cada corte histológico
<b>H<sub>Z2</sub></b>	Número de huecos encontrados en el primer trapecio circular ( <b>Z2</b> )
<b>H<sub>Z3</sub></b>	Número de huecos que entrecruzan el segundo arco de circunferencia ( <b>Z3</b> )
<b>H<sub>Z4</sub></b>	Número de huecos encontrados en el segundo trapecio circular ( <b>Z4</b> )
<b>H<sub>Z5</sub></b>	Número de huecos que entrecruzan el tercer arco de circunferencia ( <b>Z5</b> )
<b>H<sub>Z6</sub></b>	Número de huecos encontrados en el tercer trapecio circular ( <b>Z6</b> )
<b>H<sub>Z7</sub></b>	Número de huecos que entrecruzan el cuarto arco de circunferencia ( <b>Z7</b> )
<b>H<sub>Z8</sub></b>	Número de huecos encontrados en el cuarto trapecio circular ( <b>Z8</b> )
<b>H<sub>Z9</sub></b>	Número de huecos que entrecruzan el quinto arco de circunferencia ( <b>Z9</b> )
<b>H<sub>50</sub></b>	Número total de huecos encontrados en la mitad superior ( $H_{Z1}+H_{Z2}+H_{Z3}+H_{Z4}+H_{Z5}$ ), para cada corte histológico
<b>H<sub>75</sub></b>	Número de huecos encontrados en la mitad inferior ( $H_{Z6}+H_{Z7}+H_{Z8}+H_{Z9}$ ) para cada corte histológico
<b>IAS</b>	Instituto de Agricultura Sostenible
<b>IFAPA</b>	Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera
<b>I<sub>FF</sub></b>	Índice de forma del fruto individualmente
<b>IFF</b>	Índice de Forma del Fruto
<b>IFH</b>	Índice de Forma del Hueso
<b>I<sub>FMF</sub></b>	Índice de forma medio del fruto
<b>I<sub>FMH</sub></b>	Índice de forma medio del hueso
<b>IM</b>	Índice de Madurez

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>I. Mo.</b>	Índice de molestado
<b>kg</b>	kilogramos
<b>kg/ha</b>	kilogramos por hectárea
<b>KN/100g</b>	Kilo Newton por 100 gramos
<b>L</b>	litros
<b>LF</b>	Longitud del fruto en milímetros (mm)
<b>LH</b>	Longitud del hueso en milímetros (mm)
<b>L<sub>mf</sub></b>	Longitud máxima del fruto en milímetros (mm)
<b>L<sub>mh</sub></b>	Longitud máxima del hueso en milímetros (mm)
<b>m</b>	metro
<b>M</b>	Variedad de olivo ‘Manzanilla de Sevilla’
<b>MARM</b>	Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Actualmente Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
<b>mL</b>	mililitro
<b>mm</b>	milímetro
<b>mm/min</b>	milímetros por minuto
<b>mm<sup>2</sup></b>	milímetros cuadrados
<b>Mol</b>	Molestado
<b>Mz</b>	Variedad de olivo ‘Manzanilla de Sevilla’
<b>M Libre</b>	Variedad de olivo ‘Manzanilla de Sevilla’ en polinización libre
<b>M x A</b>	Cruzamiento de variedades de olivo ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Arbequina’
<b>M x CHR</b>	Cruzamiento de variedades de olivo ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Changlot Real’

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>M x G</b>	Cruzamiento de variedades de olivo ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Gordal Sevillana’
<b>M x St.CAT</b>	Cruzamiento de variedades de olivo ‘Manzanilla de Sevilla’ x ‘Santa Caterina’
<b>n</b>	Número de años evaluados
<b>N</b>	Newtons
<b>NaCl</b>	Cloruro Sódico (sal común)
<b>NaOH</b>	Hidróxido Sódico
<b>N<sub>f</sub></b>	Número total de frutos
<b>N<sub>h</sub></b>	Número total de huesos
<b>NIRS</b>	Espectroscopía de Infrarrojo cercano (del inglés Near Infrared Spectroscopy)
<b>ns</b>	No significativo
<b>n<sub>x</sub></b>	Número de frutos en cada categoría (‘x’ = ‘0’, ‘1’, ‘2’, ‘3’)
<b>P</b>	grado de significación
<b>P<sub>h</sub></b>	Peso fresco de los huesos en gramos (g)
<b>PH<sub>50</sub></b>	Porcentaje del número de huecos encontrados en la mitad superior, para cada corte histológico
<b>P<sub>e</sub></b>	Peso exacto de la muestra en fresco en gramos (g)
<b>PF</b>	Peso del fruto en gramos (g)
<b>P<sub>ij</sub></b>	Valor fenotípico del genotipo ‘i’ en el año ‘j’
<b>P<sub>m</sub></b>	Peso medio del fruto en gramos (g)
<b>POD</b>	Peroxidasa

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>PPO</b>	Polifenol-Oxidasa
<b>PROD</b>	Producción en gramos por genotipo (g/genotipo)
<b>P/H</b>	Relación pulpa-hueso (en texto). También como <b>R<sub>P/H</sub></b> (en fórmulas)
<b>r</b>	Coefficiente de correlación de Pearson
<b>R</b>	Repetibilidad
<b>RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear
<b>R<sub>P/H</sub></b>	Relación pulpa-hueso (en fórmulas). También como <b>P/H</b> (en texto)
<b>RT</b>	Radio total de cada corte histológico en milímetros (mm)
<b>RTO F</b>	Rendimiento graso sobre peso fresco en porcentaje (%) (en texto). También como <b>RTO<sub>F</sub></b> (en fórmula)
<b>RTO S</b>	Rendimiento graso sobre peso seco en porcentaje (%) (en texto). También como <b>RTO<sub>S</sub></b> (en fórmula)
<b>SIGPAC</b>	Sistema de Información Geográfica de Identificación de Parcelas Agrícolas
<b>t</b>	toneladas
<b>TEX</b>	Textura de la pulpa en KiloNewtons por 100 gramos (KN/100g)
<b>UCO</b>	Universidad de Córdoba
<b>UFC/ml</b>	Unidades Formadoras de Colonias por mililitro
<b>US</b>	Universidad de Sevilla
<b>v/v</b>	Relación volumen-volumen. Expresa el volumen de soluto por cada unidad de volumen de la disolución.
<b>y<sub>j</sub></b>	Efecto del año 'j'
<b>Z1</b>	Primer arco de circunferencia
<b>Z3</b>	Segundo arco de circunferencia
<b>Z5</b>	Tercer arco de circunferencia



## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>Z7</b>	Cuarto arco de circunferencia
<b>Z9</b>	Quinto arco de circunferencia
<b>Z2</b>	Primer trapecio circular
<b>Z4</b>	Segundo trapecio circular
<b>Z6</b>	Tercer trapecio circular
<b>Z8</b>	Cuarto trapecio circular
<b>μ</b>	Valor medio
<b>μm</b>	micra (micrómetro)
<b>σ<sup>2</sup><sub>G</sub></b>	Varianza entre genotipos
<b>σ<sup>2</sup><sub>e</sub></b>	Varianza del error
<b>°C</b>	Grados Centígrados
<b>%</b>	Porcentaje
♀	Femenino
♂	Masculino
®	Marca Registrada

## GLOSARIO

---

**Aderezo.-** Proceso en el cual las aceitunas son tratadas con una lejía alcalina y acondicionadas posteriormente en salmuera en la que sufren una fermentación completa o parcial.

**Alteración fisiológica.-** Alteración metabólica provocada por factores abióticos, que pueden manifestarse en la planta o en alguno de sus órganos. Sin.: Fisiopatía.

**Banco de Germoplasma.-** Conservatorio de material vegetal identificado y descrito, cuyo fin es preservar la variabilidad genética.

**Caballón.-** Lomo de tierra que queda entre dos surcos. **2.** Lomo que se levanta sobre la superficie del suelo para separar eras o para plantar sobre él.

**Cámara de cultivo.-** Compartimento de condiciones ambientales controladas, donde se incuban los cultivos de tejidos vegetales.

**Cocido.-** Tratamiento con hidróxido sódico diluido, en el proceso de aderezo de las aceitunas, para hidrolizar el glucósido oleuropeína, responsable del característico amargor de la aceituna.

**Colénquima.-** Tejido con células que presentan las paredes engrosadas por depósitos de celulosa.

**Colorímetro.-** Instrumento que identifica el color y el matiz para una medida más objetiva del color. Permite medir la absorbancia de una solución en una específica frecuencia de luz a ser determinada.

**Cromatografía.-** Técnica de separación de componentes de estructura similar, que se basa en sus diferencias de reparto entre una fase estacionaria (sólida o líquida) y una fase móvil (líquida o gaseosa). La separación puede realizarse utilizando distintas propiedades de los compuestos como son forma, volatilidad, fuerza iónica, etc.

## GLOSARIO

---

**Cultivar.-** Contracción de las palabras inglesas *cultivated variety*, que se aplica al conjunto de plantas cultivadas que se distingue claramente de otras de su especie por cualquier carácter (morfológico, fisiológico, citológico, químico, etc.) y que reproducido sexual o asexualmente conserva sus caracteres distintivos. La designación completa de un cultivar, conforme a los criterios del Código de Nomenclatura de Plantas cultivadas, incluye el género, la especie y el nombre propio precedido de la abreviación cv. o enmarcado entre apóstrofo. Por ejemplo, *Olea europaea* L. cv. Picual, o *Olea europaea* ‘Picual’.

**Cruzamiento.-** Fecundación dirigida, en la que los gametos que se unen proceden de individuos diferentes.

**Cruzamiento dialélicos de una vía.-** Cruzamiento entre individuos con parentales comunes, que presentan caracteres interesantes para ser cruzados.

**Cruzamiento intraespecífico.-** Cruzamiento realizado dentro de una misma especie.

**Cruzamiento recíproco.-** Cada uno de los dos cruzamientos resultantes entre dos parentales, cuando se utilizan ambos como parental masculino y como parental femenino.

**Cutícula.-** Capa de cutina que recubre externamente las células epidérmicas de las plantas.

**Decoloración.-** Eliminación o disminución del color.

**Desecador.-** Aparato utilizado para secar e impedir que las muestras higroscópicas se vuelvan a hidratar.

**Deshidratación.-** Eliminación del agua de los tejidos de un vegetal. Pérdida excesiva de agua y sales minerales de un cuerpo.

## GLOSARIO

---

***Encurtido.-*** Hortalizas y verduras que, después de haber sido curadas en salmuera o haber sufrido una fermentación láctica, se conservan en vinagre y sal, sin adición de azúcares o condimentos (encurtidos ácidos) o con azúcares y condimentos (encurtidos dulces).

***Endocarpo.-*** Capa más interna del pericarpo del fruto. En algunos tipos, como las drupas, está lignificado.

***Envero.-*** Cambio de color del fruto cuando empieza a madurar.

***Epicarpo.-*** Capa más externa del pericarpo del fruto. Sin.: Exocarpo

***Epidermis.-*** Tejido protector primario que rodea los órganos de una planta. Normalmente está constituida por una sola capa de células, pero en ocasiones presenta varias (epidermis pluriestrata o multiseriada). Deriva de la protodermis y se destruye durante el crecimiento secundario, siendo sustituida por la peridermis.

***Escandallo.-*** Acción de tomar al azar o con ciertas condiciones una o varias unidades de un conjunto como representativas de la calidad de todas.

***Espectrofotómetro.-*** Instrumento usado en el análisis químico que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones y la concentración o reacciones químicas que se miden en una muestra. También es utilizado en los laboratorios de química para la cuantificación de sustancias y microorganismos.

***Estaquilla.-*** Porción separada de un vegetal que es inducida a enraizar o brotar, según proceda del tallo o de la raíz, respectivamente, para que se reproduzca la planta. Sin.: Estaca.

***Estratificación.-*** Tratamiento que consiste en someter a un régimen de bajas temperaturas semillas embebidas que se mantienen en un lecho de arena o turba. De este

## GLOSARIO

---

modo se elimina la latencia, facilitando la germinación cuando se transfieren a una temperatura favorable.

**Exocarpo.-** Capa más externa del pericarpo del fruto. Sin.: Epicarpo, epicarpio, exocarpio.

**Fase Juvenil.-** Periodo del desarrollo de plantas de semillas comprendido entre la germinación y la aparición de las primeras flores. Además de la ausencia de floración se caracteriza usualmente por otros rasgos morfológicos diferenciales, como la presencia de espinas, la disposición de las hojas en los ramos y su forma que desaparecen antes de la aparición de la floración. En las especies arbóreas como el olivo su duración es prolongada, lo que representa el principal obstáculo para la mejora genética por el prolongado tiempo de espera para la evaluación de las plantas de semilla de los cruzamientos. Se denomina también *periodo juvenil*.

**Fermentación.-** Degradación anaeróbica de glucosa u otros sustratos con liberación de energía metabólica. Se acumulan productos de degradación parcial que dan nombre a diversos tipos de fermentación, como alcohólica (etanol), láctica (ácido láctico), etc.

**Fermentador.-** Aparato donde tiene lugar la descomposición anaerobia de materias orgánicas complejas por microorganismos.

**Fijación.-** Operación que permite retrasar la aparición de posibles alteraciones en las muestras tras la muerte de tejidos y células.

**Firmeza.-** Medida de resistencia a la deformación o a la penetración. Es una medida de resistencia de las paredes celulares que se utiliza para dar valor a la textura de los frutos.

**Genotipo.-** Conjunto de la información genética de un organismo.

## GLOSARIO

---

**Haces vasculares.-** Cordones longitudinales de tejidos conductores que constan de floema, xilema, y, en los haces abiertos característicos del crecimiento secundario, un tejido meristemático (cambium).

**Heredabilidad.-** Proporción de la varianza fenotípica observada en los caracteres cuantitativos, que es debida a diferencias génicas (heredabilidad en sentido amplio) o a diferencias génicas aditivas (heredabilidad en sentido estricto).

**Heterocigosis.-** Condición de tener alelos diferentes en uno o varios *loci* de segmentos cromosómicos homólogos.

**Hipodermis.-** Capa más externa (o varias) del parénquima cortical subepidérmico que presenta modificaciones estructurales y desempeña una función protectora superficial en la planta. En ocasiones contiene células esclerenquimáticas.

**Histología.-** Parte de la biología que estudia los tejidos.

**Índice de madurez.-** Medida del grado de maduración de un fruto.

**Infiltración.-** Penetración de un líquido en los poros o intersticios de un sólido.

**Laminilla media.-** Parte de la pared celular formada durante la división celular. Separa las paredes primarias de las dos células, a las que une. Está constituida por sustancias pécticas.

**Lejía.-** Solución de un álcali en agua.

**Macaco.-** En algunas zonas del sur de España, saco de recolección acolchado que se emplea para la recolección de frutas sensible al golpeo.

**Maduración.-** Proceso de adquisición de las características adultas o definitivas por una célula, tejido, órgano o individuo. El término se aplica a la diferenciación celular, al desarrollo de tejidos y órganos, al de las estructuras reproductivas (esporas, gamitos, embriones y semillas) y, a la transición entre las fases juvenil y adulta de una planta.

## GLOSARIO

---

2. Proceso fisiológico que conduce a cambios morfológicos, en el sabor, olor, textura, y color del fruto, que lo hacen aceptable para el consumo. En el olivo el cambio de color externo del fruto, de verde a negro, se usa como índice de madurez de la aceituna.

**Madurez.-** Estado final del proceso de maduración. **Mesocarpo.-** Región o capa central del pericarpo del fruto de las angiospermas, flanqueado entre el exocarpo y el endocarpo. En algunos frutos carnosos (drupas) es la parte comestible.

**Microtomo.-** Instrumento mecánico con el que se realizan secciones de espesor micrométrico y por lo tanto lo suficientemente delgados para su posterior observación al microscopio.

**Molestado.-** Aparición de manchas oscuras en la parte externa del exocarpo de los frutos de olivo, como consecuencia de los golpes que se suelen producir en la recolección y que se mantienen incluso después del proceso de fermentación.

**Nucleolo.-** Orgánulo intranuclear de forma esférica y rico en ARN y ADN, que desaparece en Profase y reaparece en Telofase. Está asociado a un segmento cromosómico específico denominado organizador nucleolar.

**Ordeño.-** Método operacional para la recolección de ciertos productos hortícolas. Consiste en coger la aceituna directamente del olivo con la mano.

**Oxidación.-** Proceso que conlleva el oscurecimiento de tejidos vegetales o de sus extractos, como consecuencia de su exposición al ambiente o de su envejecimiento.

**Pardeamiento.-** Coloración marrón oscura que aparece en los tejidos, o en el medio de cultivo *in vitro*, debida a procesos de oxidación fenólica.

**Pared celular.-** Cubierta externa, rígida, de las células vegetales, las de los hongos y las de las bacterias, pero no las animales. Da forma a las células vegetales y proporciona rigidez al organismo. La pared celular de los vegetales está constituida por celulosa,

## GLOSARIO

---

distintas hemicelulosas y sustancias pécticas, así como proteínas. En algunos casos está reforzada por la impregnación con lignina. En los tejidos aislantes está impregnada con cutina y/o suberina. Característicamente consta de tres capas: lámina media, pared primaria y pared secundaria; esta última falta en algunos tipos celulares.

**Parénquima.-** Tejido vegetal constituido por células vivas de pared delgada (primaria) y relativamente indiferenciadas. Normalmente no presenta una estructura elaborada, si bien puede presentarse una especialización funcional como tejido de reserva (parénquima reservante) o de asimilación (parénquima clorofílico). En algunos casos presenta espacios intercelulares de gran tamaño e intercomunicados (aerénquima).

**Pectina.-** Cada uno de los polisacáridos ácidos de la pared celular caracterizados por un contenido elevado en ácido galacturónico. Particularmente abundantes en la lámina media, cementan las células entre sí.

**Placa calefactora.-** Pequeño aparato de sobremesa, portátil y autónomo, que posee uno o más elementos de calefacción eléctrica, y que se emplea para calentar recipientes con líquidos, de forma controlada.

**Placa Petri.-** Recipiente de vidrio o plástico, de poca profundidad, con dos partes (fondo y tapa). Muy usado en el cultivo de tejidos vegetales o de micro-organismos.

**Plantón.-** Árbol joven, generalmente de uno a tres años, criado en vivero para ser transplantado.

**Preselecciones.-** Cada uno de los individuos inicialmente seleccionados en un programa de mejora genética. En el programa de mejora de Córdoba, se denomina preselecciones a los genotipos seleccionados en la segunda etapa del programa. Se establecen en ensayos de campo con un mínimo de repeticiones (cuatro/genotipo), usando los parentales como testigos.



## GLOSARIO

---

En esta etapa se evalúan parámetros complejos, generalmente agronómicos, que requieran repeticiones.

***Producción acumulada.-*** Suma de las producciones para una serie de años considerados.

***Progenie.-*** Conjunto de individuos originados por reproducción sexual a partir de uno o dos parentales. En el programa de mejora de Córdoba, se denomina progenie al elevado número de genotipos de diferentes cruzamientos, sin réplicas o repeticiones (un sólo árbol/genotipo).

***Progenitor.-*** Individuos que dan origen a los primeros genotipos de un cruzamiento.

***Programa de mejora genética.-*** Proyecto ordenado de actividades para cambiar el genotipo, mejorándolo para un determinado medio y según el aprovechamiento para el que se vaya a destinar de acuerdo con las necesidades del hombre.

***Propagación vegetativa o asexual.-*** La basada en la reproducción asexual a partir de órganos o fragmentos de órganos vegetativos. Puede tener lugar mediante el uso de estructuras especializadas como estolones, propágulos, etc., o ser provocada artificialmente, como el estaquillado.

***Pulpa.-*** Parte mollar de la fruta que está debajo de la cáscara o de la piel.

***Rehidratación.-*** Proceso mediante el cual se repone líquido a un compuesto.

***Rendimiento.-*** Parte de un total que es aprovechado o posible de conseguir. Se aplica a potencias, energías, tiempos, etc.

***Repetibilidad.-*** Correlación entre medidas repetidas de un carácter cuantitativo en un individuo o en individuos genéticamente iguales.

## GLOSARIO

---

***Salmuera.-*** Disolución con un alto contenido en sal, para conservación de determinados alimentos. **2.** Agua salina.

***Segregar.-*** Separación de los cromosomas o genes de origen paterno o materno durante la meiosis.

***Selección.-*** Proceso sistemático en el que individuos de una población con diferente genotipo dan lugar a diferente número de descendientes, de modo que en sucesivas generaciones las frecuencias génicas de la población cambian.

***Selección avanzada.-*** Cada uno de los individuos seleccionados en una fase avanzada de ejecución de un programa de mejora genética. En el programa de mejora de Córdoba, se denomina selección avanzada a los genotipos seleccionados que son incluidos en una red de ensayos de campo para evaluar la interacción del genotipo con el medio ambiente, en las áreas de posible difusión de las nuevas variedades obtenidas.

***Selección clonal.-*** La de una planta de genotipo agronómicamente superior a las de su clase (población, variedad población, descendencia, etc.), que es propagada vegetativamente.

***Selección indirecta.-*** Selecciona los individuos que tienen mejor fenotipo para un carácter distinto al que se desea mejorar, porque éste resulte difícil de medir con precisión directamente o por cualquier otra razón. Asume que existe un alto grado de correlación entre los dos caracteres.

***Senescencia.-*** Fase del desarrollo que precede a la muerte de una planta u órgano. Puede afectar a todos los órganos de la planta simultáneamente, o sólo a algunos de ellos.

## GLOSARIO

---

***Susceptibilidad.-*** Facultad de una célula o individuo que posibilita la alteración o desviación del funcionamiento normal de los procesos fisiológicos ante un determinado parásito o una situación del estrés. Entre los hospedadores susceptibles existe una escala de susceptibilidad.

***Textura.-*** Disposición que tienen entre sí las partículas de un cuerpo. En los vegetales, viene determinada por la consistencia de las paredes celulares y el grado de turgencia de las células.

***Texturómetro.-*** Aparato usado para medir la textura en los productos hortofrutícolas.

***Tiempo mínimo de selección.-*** Número mínimo de años que tienen que pasar para poder empezar a seleccionar o descartar genotipos en un programa de mejora genética.

***Tinción.-*** Procedimiento empleado en la preparación de muestras para observación microscópica, que incrementa su contraste. Se utiliza colorantes ácidos, básicos o neutros, mucho de los cuales son selectivos para determinados tipos de tejidos o compuestos químicos.

***Variabilidad.-*** Diferencia en la expresión de una característica en los distintos progenitores procedentes del mismo cruzamiento. De esta manera, si la variabilidad es muy alta, se debe a que los genitores son muy heterocigóticos para los genes implicados en el carácter analizado.

***Variación genética.-*** Ocurrencia de diferencias genotípicas en una población o una especie. Sin.: Variabilidad.

***Variedad.-*** Grupos de plantas similares dentro de una especie, que difiere del resto por caracteres secundarios pero permanentes.

## GLOSARIO

---

***Vecería.-*** Fenómeno que acontece en algunas plantas perennes caracterizado por una producción alternante, con años de alta cosecha separados por años de cosecha muy baja o aún sin cosecha. Es provocada por la reducción marcada de la floración el año que sigue a una cosecha copiosa.

***Vigor.-*** Crecimiento notable, fuerte y bien equilibrado de las plantas.

**A**

- AAO (Agencia para el Aceite de Oliva). 2010. <http://aplicaciones.magrama.es/pwAgenciaAO/General.aao>.
- Ahmadi, E., Ghassemzadeh, H. R., Sadeghi, M., Moghaddam, M. and Neshat, S. Z. 2010. The effect of impact and fruit properties on the bruising of peach. *Journal of Food Engineering* 97: 110-117.
- Albuquerque, A. S., Bruckner, C. H., Cruz, C. D., Salomão, L. C. and Neves, J. C. 2004. Repeatability and correlations among peach physical traits. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4: 441-445.
- Allard, R. W. 1960. *Principles of plant breeding*. John Wiley and Sons, Inc. New York, NY.
- Archibald, R. D. and Melton, L. D. 1987. The anatomy of the fleshy pericarp of maturing Moorpark apricots, *Prunus armennica*. *New Zealand Journal of Botany* 25: 181-184.
- Arias, E., González, J., Oria, R. and López-Buesa, P. 2007. Ascorbic Acid and 4-Hexylresorcinol Effects on Pear PPO and PPO Catalyzed Browning Reaction. *Journal of Food Science* 72: 422-429.
- ASEMESA (Asociación de Exportadores e Industriales de Aceituna de Mesa). 2011. [www.asesa.org](http://www.asesa.org).

**B**

- Bagnara, G. L., Maltoni, M. L., Laghi, M. and Rivalta, L. 1994. Relationship between vegetative structure and early bearing in pear seedlings. *Acta Horticulturae* 367: 101-108.
- Baranowski, P., Mazurek, W., Witkowska-Walczak, B. and Sławiński, C. 2009. Detection of early apple bruises using pulsed-phase thermography. *Postharvest Biology and Technology* 53: 91-100.
- Barranco, D. 2008. Variedades y Patrones. En: *El Cultivo del Olivo*. Diego Barranco, Ricardo Fernández-Escobar y Luis Rallo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Barranco, D., Trujillo, I., De la Rosa, R., León, L. and Rallo, P. 2007. Variedades. Del legado de diversidad a la mejora genética. En: *Tierras del olivo*. Edita y coordina: Junta de Andalucía. Fundación el legado Andalusi.
- Barranco, D., Trujillo, I. y Rallo, L. 2005. Libro I. Elaiografía Hispánica. En: *Variedades de olivo en España*. Luis Rallo, Diego Barranco, Juan Manuel Caballero, Carmen Del Río, Antonio Martín, Joan Tous e Isabel Trujillo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Barranco, D., Trujillo, I., Muñoz-Díez, C., Martín, N., Ojeda, M. A., Rodríguez, E., Trapero, C., Morello, P., Cabello, D., El Riachy, M. y Rallo, L. 2011. Recursos genéticos y mejora del olivo (AGR-UCO). III Jornadas Nacionales del grupo de Olivicultura de la SECH. Libro de Ponencias y Comunicaciones. p. 67-72.
- Bartolini, G., Petruccelli, R., Tyndall, H. D. and Menini, U. G. 2002. Classification, origin, diffusion and history of the olive. FAO, Roma (Italia).
- Bartolini, G., Prevost, G., Messeri, C., Carignani, G. and Menini, U. G. 1998. *Olive Germplasm: Cultivars and World-Wide collections*. FAO, Roma (Italia).
- Bayo-Canha, A., Fernández-Fernández, J. I., Martínez-Cutillas, A. and Ruiz-García, L. 2012. Phenotypic segregation and relationships of agronomic traits in Monastrell x Syrah wine grape progeny. *Euphytica* 186: 393-407.

**B**

- Belaj, A., León, L., Satovic, Z. and De la Rosa, R. 2011. Variability of wild olives (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris*) analyzed by agro-morphological traits and SSR markers. *Scientia Horticulturae* 129: 561-569.
- Belaj, A., Satovic, Z., Rallo, L. and Trujillo, I. 2002. Genetic diversity and relationships in olive (*Olea europaea* L.) germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 638-644.
- Bellini, E. 1993. Genetic variability and heritability of some characters in cross-bred olive seedlings. *Olivae* 49: 21-34.
- Bellini, E. 1992. Behaviour of some genetic characters in olive seedlings obtained by cross-breeding. *Acta Horticulturae* 317: 197-208.
- Bellini, E., Giordani, E., Parlati, M. V. and Pandolfi, S. 2002a. Olive Genetic Improvement: Thirty Years of Research. *Acta Horticulturae* 586: 105-108.
- Bellini, E., Giordani, E., Parlati, M. V., Pandolfi, S. and Perri, E. 2002b. Olive Genetic Improvement: Variability within the Progeny 'Picholine x Grossanne'. *Acta Horticulturae* 586: 183-186.
- Ben-Shalom, N., Harel, E. and Mayert, A. M. 1978. Enzymic browning in Green olives and its Prevention. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 29: 398-550.
- Ben-Tor, A. 1992. *The Archaeology of Ancient Israel*. Yale University Press.
- Berardinelli, A., Donati, V., Giunchi, A., Guarnieri, A. and Ragni, L. 2005. Damage to pears caused by simulated transport. *Journal of Food Engineering* 66: 219-226.
- Berlyn, G. P. and Miksche, J. P. 1976. *Botanical microtechnique and cytochemistry*. 3rd Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Besnard, G., Baradat, P. and Bervillé, A. 2001. Genetic relationships in the olive (*Olea europaea* L.) reflect multilocal selection of cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 251-258.
- Blahovec, J. and Paprštein, F. 2005. Susceptibility of pear varieties to bruising. *Postharvest Biology and Technology* 38: 231-238.
- Bollen, A. F. 2005. Major factors causing variation in bruise susceptibility of apples (*Malus domestica*) grown in New Zealand. *New Zealand Journal Crop and Horticultural Science* 33: 201-210.
- Bollen, A. F., Cox, N. R., Dela Rue, B. T. and Painter, D. J. 2001. A descriptor for damage susceptibility of a population of produce. *Journal of Agricultural Engineering Research* 78 (4): 391-395.
- Brenes, M. 2010. Sustancias con propiedades biológicas en aceituna de mesa. III Jornadas Internacionales de Aceituna de mesa, Sanlúcar la Mayor (Sevilla). Libro de Ponencias y Comunicaciones. p. 24.
- Brett, C. T. and Waldron, K. W. 1996. *Physiology and Biochemistry of Plant Cell Wall*, 2nd Eds. Chapman and Hall, London.
- Brooks, R. M., Bradley, M. V. and Anderson, T. I. 1963. *Plant Microtechnique manual*. Department of Pomology, University of California-Davis.
- Brosnan, T. and Sun, D. W. 2004. Improving quality inspection of food products by computer vision-a review. *Journal of Food Engineering* 61: 3-16.

**C**

- CAP (Conserjería de Agricultura y Pesca). 2010. Caracterización del sector de la aceituna de mesa en Andalucía. Junta de Andalucía, Sevilla.

## C

- Cantín, C. M., Gogorcena, Y. and Moreno, M. A. 2010. Phenotypic diversity and relationships of fruit quality traits in peach and nectarine (*Prunus persica* (L.) Batsch) breeding progenies. *Euphytica* 171: 211-22.
- Casado, F. J., Sánchez, A. H., Rejano, L. y Montaña A. 2007. Estudio de nuevos procedimientos de elaboración de aceitunas verdes tratadas con álcali, no fermentadas, conservadas mediante tratamientos térmicos. *Grasa y Aceites* 58 (3): 275-282.
- Castro-García, S., Blanco-Roldán, G. L., Gil-Ribes, J. A. y Jiménez-Jiménez, F. 2010. Análisis de los daños producidos en la aceituna de mesa (variedad Manzanilla) durante el proceso de recolección mecanizada con vibradores de troncos. III Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa, Sanlúcar la Mayor (Sevilla). Libro de Ponencias y Comunicaciones: nº 29 (p. 54).
- Castro-García, S., Rosa, U. A., Gliever, C. J., Smith, D., Burns, J., Krueger, W., Ferguson, L. and Glozer, K. 2009. Video Evaluation of Table Olive Damage during Harvest with a Canopy Shaker. *Horttechnology* 19 (2): 260-266.
- Civantos, H. F. 2008. La Olivicultura en el mundo. En: *El Cultivo del Olivo*. Diego Barranco, Ricardo Fernández-Escobar y Luis Rallo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- COI (Consejo Oleícola Internacional). 2011. [www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org).
- COI (Consejo Oleícola Internacional). 2004. [www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org).
- Columela, L. J. M. 42 a. C. *De Re Rustica* Vol II. Book XIII. Nestlé A.E.P.A. (Eds.), Santander, España.
- Connell, J. H. 1994. History and scope of the olive industry. In: Ferguson, L., Sibbett, G. S., Martin, G. C. (Eds.) *Olive Production Manual*, University of California. Davis (USA).
- Cornacchia G., Cruz, C. D., Lobo, P. R. and Pires, I. E. 1995. Estimativas do coeficiente de repetibilidade para características fenotípicas de procedências de *Pinus tecunumanii* (Schw.) Eguiluz, Perry e *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barret, Golfari. *Revista Árvore* 19: 333-345.
- Crisosto, C. H., Johnson, R. S., Luza, J. and Day, K. 1993. Incidence of Physical Damage on Peach and Nectarine Skin Discoloration Development: Anatomical Studies. *Journal of the American society for Horticultural Science* 118 (6): 796-800.
- Cubero, J. I. 1993. Una breve historia del cultivo del olivo. *Revista Agricultura* 730: 406-412.

## D

- D' Ambrogio, A. A. 1986. *Manual de técnicas de histología vegetal*. Eds. Hemisferio sur, Buenos Aires, Argentina.
- D'Andria, R., Lavini, A., Morelli, G., Patumi, M., Terenziani, S., Calandrelli, D. and Fragnito, F. 2004. Effect of water regimes on five pickling and double aptitude olive cultivars (*Olea europaea* L.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 79:18-25.
- Da Siva, P. C. 2006. Calidad de flor en variedades portuguesas del olivo (*Olea europaea* L.). Tesis de Master of Science en Olivicultura y Elaiotecnia, E. T. S. I. A. M. Universidad de Córdoba.

## D

- De la Rosa, R., Kiran A. I., Barranco D. and León, L. 2006. Seedling vigor as a preselection criterion for short juvenile period in olive breeding. *Australian Journal of Agricultural Research* 57: 477-481.
- De la Rosa, R., León, L., Moreno-Álías, I., Barranco, D. and Rallo, L. 2008. Ripening time and fruit characteristics of advanced olive selections for oil production. *Australian Journal of Agricultural Research* 59: 46-51.
- De la Rosa, R. y León, L. 2009. Nuevas variedades y perspectivas futuras de la mejora varietal en olivo. *Vida Rural* 292: 41-44.
- De Souza Leão, P. C. and Da Costa, J. G. 2003. Estimates of repeatability and path coefficients on grapes. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 3: 231-236.
- De Souza, V. and Byrne, D. 1998. Heritability, Genetic and Phenotypic Correlations, and Predicted Selection Response of Quantitative Traits in Peach: II. An Analysis of Several Fruit Traits. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 123 (4): 604-611.
- Del Río, C. and Caballero, J. M. 2008. Variability and Classification of Olive Cultivars by Fruit Weight, Flesh/Stone Ratio and Oil Percentage. *Acta Horticulturae* 791 (1): 39-44.
- Del Río, C., Caballero, J. M. y García-Fernández, M<sup>a</sup>. D. 2005a. Producción (Banco de Germoplasma de Córdoba). En: Variedades de olivo cultivadas en España (Libro II: Variabilidad y selección). Luis Rallo, Diego Barranco, Juan Manuel Caballero, Antonio Martín, Carmen Del Río, Joan Tous e Isabel Trujillo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Del Río, C., Caballero, J. M. y García-Fernández, M<sup>a</sup>. D. 2005b. Rendimiento graso de la aceituna (Banco de Germoplasma de Córdoba). En: Variedades de olivo cultivadas en España (Libro II: Variabilidad y selección). Luis Rallo, Diego Barranco, Juan Manuel Caballero, Antonio Martín, Carmen Del Río, Joan Tous e Isabel Trujillo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Demirsoy L. and Demirsoy H. 2004. The epidermal characteristics of fruit skin of some sweet cherry cultivars in relation to fruit cracking. *Pakistan Journal of Botany* 36: 725-731.
- Díaz, R., Faus, G., Blasco, M., Blasco, J. and Moltó, E. 2000. The application of a fast algorithm for the classification of olives by machine vision. *Food Research International* 33: 305-309.
- Díaz, R., Gil, L., Serrano, C., Blasco, J., Moltó, E. and Blasco, J. 2004. Comparison of three algorithms in the classification of table olives by means of computer vision. *Journal of Food Engineering* 61: 101-107.
- Díaz A., Martín A., Rallo, P. and De la Rosa, R. 2007. Cross-compatibility of the Genitors as the Main Factor for Successful Olive Breeding Crosses. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* 132 (6): 830-835.
- DoVale, J. C., Lima e Silva, P. S., Fialho, G. S., Mariguela, K. H. and Fritsche-Neto, R. 2011. Repeatability and number of growing seasons for the selection of custard apple progenies. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 11: 59-63.
- Dobrzański, B. and Rybczyński, R. 2002. Colour change of apple as a result of storage, shelf-life, and bruising. *International Agrophysics* 16: 261-268.
- Dogan S. and Dogan, M. 2004. Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from Thymus (*Thymus longicaulis subsp. chaubardii* var. 'chaubardii'). *Food Chemistry* 88: 69-77.



**E**

- El Riachy, M., Priego-Capote, F., León, L., Luque de Castro, M<sup>a</sup>. D. and Rallo, L. 2012a. Virgin olive oil phenolic profile and variability in progenies from olive crosses. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92 (12): 2524-2533.
- El Riachy, M., Priego-Capote, F., Rallo, L., Luque-de Castro, M<sup>a</sup>. D. and León, L. 2012b. Phenolic composition of virgin olive oils from cross breeding segregating populations. *European Journal of Lípid of Science and Technology* 114: 542-551.
- El Riachy, M., Priego-Capote, F., Rallo, L., Luque-de Castro, M. D. and León, L. 2012c. Phenolic profile of virgin olive oil from advanced breeding selections. *Spanish Journal of Agricultural Research* 10 (2): 443-453.
- Ersoy, N., Arsel, A. H., Sefer, F., Guloglu, U. and Kaya, H. 2008. The First Findings on the Promising Individuals from Hybridization. *Acta Horticulturae* 791: 49-54.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. John Wiley & Sons, New York.

**F**

- Falconer, D. S. 1989. *Introduction to quantitative genetics*. Longman, London.
- Fanizza, G. 1982. Genetic variability and fruit character associations in table olive (*Olea europaea*). *Rivista della Ortoflorofrutticoltura Italiana* 66: 115-120.
- Femenia, A., Sánchez, E. S., Simal, S. and Roselló, C. 1998. Developmental and ripening-related effects on the cell wall of apricots (*Prunus armeniaca*) fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77: 487-493.
- Ferguson, L. 2006. Trends in olive harvesting. *Grasas y Aceites* 57 (1): 9-15.
- Fernández-Díez, M. J., De Castro, R., Garrido, A., González, F., González, F., Nosti-Vega, M., Heredia-Moreno, A., Mínguez, I., Rejano, L., Durán, M. C., Sánchez, F., García, P. y De Castro, A. 1985. *Biotechnología de la Aceituna de Mesa*. Servicio de Publicaciones del CSIC. Madrid.
- Ferreira, J. 1979. *Explotaciones olivaderas colaboradoras*, N<sup>o</sup> 5. Ministerio de Agricultura. Madrid.
- Firoozabady, E. and Olmo, H. P. 1987. Heritability and correlation studies in certain quantitative traits in table grapes, *Vitis* spp. *Vitis* 26: 132-146.
- Floros, J. D., Wetzstein, H. Y. and Chinnan, M. S. 1987. Chemical (NaOH) peeling as viewed by scanning electron microscopy: pimiento peppers as a case study. *Journal of Food Science* 52: 1312-1320.
- Flurkey, W. H. and Jen, J. J. 1980. Purification of peach polyphenol oxidase in the presence of added protease inhibitors. *Journal of Food Biochemistry* 4: 29-41.
- Fontanazza, G., Vergari, G., Patumi, M. and Giorio, G. 1999. Preliminary results of the evaluation of yield components in a F<sub>1</sub> segregant population of olive seedlings from the cross (Leccino x Kalamata). *Acta Horticulturae* 474: 97-101.

**G**

- Garcia, J. L., Ruiz-Altisent, M. and Barreiro, P. 1995. Factors influencing mechanical properties and bruise susceptibility of apples and pears. *Journal of Agricultural Engineering Research* 61: 11-17.

## G

- García-García, P., Segovia-Bravo, K. A., Jarén-Galán, M., López-López, A. y Garrido-Fernández, A. 2010. Mecanismos de la reacción de pardeamiento en aceitunas: enzimas y fenoles que intervienen. III Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa, Sanlúcar la Mayor (Sevilla). Libro de Ponencias y Comunicaciones: nº 8 (p. 35).
- Garrido-Fernández, A., Fernández-Díez, M. J. and Adams, M. R. 1997. Table olives: production and processing, Chapman & Hall, London.
- Garrido-Fernández, A. 2011. Retos de las industrias de aceitunas de mesa. III Jornadas Nacionales del Grupo de Olivicultura de la SECH, Sevilla (España). p. 27-30.
- Glozer, K., Krueger, B. and Ferguson, L. 2008. Evaluation of antioxidants and preharvest plant growth regulators to reduce physical damage and improve firmness in 'Manzanillo' olives in 2008. Plant Sciences Department, U. C. Davis.
- Golan-Goldhirsh, A. and Whitaker, J. R. 1984. Effect of ascorbic acid, sodium bisulfite, and thiol compounds on mushroom polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 32: 1003-1008.
- González, E. M., De Ancos, B. and Cano, M. P. 2000. Partial characterization of peroxidase and polyphenol oxidase activities in blackberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5459-5464.
- González, J. B. y Membrillo, J. 2010. Efectos de la recolección mecanizada en la variedad "Carrasqueña". III Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa, Sanlúcar la Mayor (Sevilla). Libro de Ponencias y Comunicaciones: nº 26 (p. 51).
- Grotte, M., Duprat, F., Loonis, D. and Pietri, E. 2000. Bruising appearance of apples: involved parameters. *Science Aliments* 20: 575-590.
- Gucci, R., Lodolini, E. M. and Rapoport, H. F. 2009. Water deficit-induced changes in mesocarp cellular processes and the relationship between mesocarp and endocarp during olive fruit development. *Tree Physiology* 29: 1575-1585.

## H

- Hackett, W. P. 1985. Juvenility, maturation and rejuvenation in Woody plants. *Horticultural Reviews* 7: 109-155.
- Hammami, S. B. M. and Rapoport, H. F. 2012. Quantitative analysis of cell organization in the external region of the olive fruit. *International Journal of Plant Science* 173 (9): 993-1004.
- Hammami, S. B. M., León, L., Rapoport, H. F. and De la Rosa, R. 2011. Early growth habit and vigour parameters in olive seedlings. *Scientia Horticulturae* 129: 761-768.
- Hansche, P. E., Beres, V. and Forde, H. I. 1972. Estimates of quantitative genetic properties of walnut and their implications for cultivar improvement. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 97: 279-285.
- Harker, F. R., Stec, M. G. H., Hallett, I. C. and Bennett, C. L. 1997. Texture of parenchymatous plant tissue: A comparison between tensile and other instrumental and sensory measurements of tissue strength and juiciness. *Postharvest Biology and Technology* 11: 63-72.

## H

- Harker, F. R., and Sutherland, P. W. 1993. Physiological changes associated with fruit ripening and the development of mealy texture during storage of nectarines. *Postharvest Biol. Tech* 2(4): 269-277.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T. and Geneve, R. L. 2002. *Plant Propagation Principles and Practices* (7th Ed.). Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Hegde, S. and Maness, N. O. 1998. Changes in apparent molecular mass of pectin and hemicellulose extracts during peach softening. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 123: 445-456.
- Hernández, T. 2010. Resultados recientes en España sobre recolección mecanizada de aceituna de mesa. III Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa, Sanlúcar la Mayor (Sevilla), p. 13.
- Homutová, I. and Blažek, J. 2006. Differences in fruit skin thickness between selected apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars assessed by histological and sensory methods. *Horticultural Science* 33 (3): 108-113.
- Hyodo, H., Kuroda, H. and Yang, S. F. 1978. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. *Plant Physiology* 62: 31-35.

## I

- IOOC, 2009. International Olive Oil Council, Trade Standard Applying to Table Olives. <http://www.internationaloliveoil.org> (accessed September, 2009).

## J

- Jaramillo, S., De Castro, A. y Rejano, L. 2011. Proceso tradicional de aderezo de aceitunas verdes de mesa. Racionalización del cocido. *Grasas y Aceites* 62 (4): 375-382.
- Jeffree, C. 2006. The fine structure of the plant cuticle. In: Riederer M., and Müller C. (Eds.), *Biology of the plant cuticle*. Oxford, Blackwell Publishing.
- Jensen, W. A. 1962. *Botanical Histochemistry* W. H. Freeman & Company (Eds.). San Francisco.
- Jiang, Y., Fu, J., Zauberman, G. and Fuchs, Y. 1999. Purification of polyphenol oxidase and the browning control of litchi fruit by glutathione and citric acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 950-954.
- Jiménez, A., Rodríguez, R., Fernández-Caro, I., Guillén, R. Fernández-Bolaños, J. and Heredia, A. 2001a. Olive Fruit Cell Wall: Degradation of Pectic Polysaccharides during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 409-415.
- Jiménez, A., Rodríguez, R., Fernández-Caro, I., Guillén, R. Fernández-Bolaños, J. and Heredia, A. 2001b. Olive Fruit Cell Wall: Degradation of Cellulosic and Hemicellulosic Polysaccharides during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2008-2013.
- Jiménez, J. y De Miguel Jover, J. L. 2008. El olivo en las fuentes clásicas. En: *Tierras del olivo*. Edita y coordina: Junta de Andalucía. Fundación el legado Andalusi.

**J**

- Jiménez-Jiménez, F., Castro-García, S., Blanco-Roldán, G. L., Ferguson, L., Rosa, U. y Gil-Ribes, J. A. 2012. Evaluación y evolución temporal del molestado producido por daño mecánico en frutos de tres variedades de aceituna de mesa. IV Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa, Córdoba. Libro de Ponencias y Comunicaciones: nº 31 (p. 120-121).
- Jiménez-Jiménez, F., Castro-García, S., Blanco-Roldán, G. L. y Gil-Ribes, J. A. 2011. Escandallo Digital: determinación de los daños al fruto durante recolección en olivar de mesa mediante el análisis de imágenes. El Aceite de Oliva. Actas del XV Symposium de Expoliva 2011, p. 1-9.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Company (Eds.). New York.

**K**

- King, J. R. 1938. Morphological development of the fruit of the olive. Hilgardia 11: 437-458.
- Knee, M. and Miller, A. R. 2002. Mechanical injury. In: Knee, M. (Ed.), Fruit Quality and its Biological Basis. Sheffield Academic press, Sheffield, 157-179.
- Kouraba, K., Gil-Ribes, J., Blanco, J. L., De Jaime, M. A. and Barranco, D. 2004. Suitability of olive varieties for mechanical harvester shaking. Olivae 101: 39-43.

**L**

- Lamikandra, O., Sharon, D. K. and Mitwe, N. M. 1992. Muscadine grape polyphenol oxidase: partial purification by high-pressure liquid chromatography and some properties. Journal of Food Science 57: 686-689.
- Lattanzio, V., Linsata, V., Palmieri, S. and Van Sumere, C. 1989. The beneficial effect of citric and ascorbic acid on the phenolic browning reaction in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. Journal of Agricultural and Food Chemistry 33: 93-106.
- Lavee, S. 1990. Aims, methods, and advances in breeding of new olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Acta Horticulturae 286: 23-36.
- Lavee, S. and Avidan, B. 2012. Aspects of Female Heredity in the Breeding Progeny of Different Olive Cultivars. Acta Horticulturae 949: 85-92.
- Lavee, S., Nashef, M., Wodner, M. and Harshemesh, H., 1990. The effect of complementary irrigation added to old olive trees (*Olea europaea* L.) cv 'Souri' on fruits characteristics, yield and oil production. Advances in Horticultural Science 4: 135-138.
- Lee, K. J., Kang, S., Kim, M. S. and Noh, S. H. 2005. Hyperspectral imaging for detecting defect on apples. ASAE Paper No. 053075, St. Joseph, Michigan.
- León, L. 2012. Usefulness of portable near infrared Spectroscopy in olive breeding programs. Spanish Journal of Agricultural Research 10 (1): 141-148.
- León, L. and Rallo, L. 2002. Selection on Olive Progenies based on Earliness of Bearing and Fruit Oil Content. Acta Horticulturae 586: 205-208.
- León, L., Beltrán, G., Aguilera, M. P., Rallo, L., Barranco, D. and De la Rosa, R. 2011a. Oil composition of advanced selections from an olive breeding program. European Journal of Lipid Science and Technology 113: 870-875.

## L

- León, L., De la Rosa, R., Barranco, D. and Rallo, L. 2007a. Breeding for Early Bearing in Olive. *HortScience* 42 (3): 499-502.
- León L., De la Rosa, R., Barranco, D. and Rallo, L. 2005a. Selection for fruit renewal force and related characteristics in olive breeding progenies. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 45: 1643-1647.
- León, L., De la Rosa, R., Gracia, A., Barranco, D. and Rallo, L. 2008. Fatty acid composition of advanced olive selections obtained by crossbreeding. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 1921-1926.
- León, L., De la Rosa, R., Rallo, L., Guerrero, N. and Barranco, D. 2007b. Influence of spacing on the initial production of hedgerow 'Arbequina' olive orchards. *Spanish Journal of Agricultural Research* 5 (4): 554-558.
- León, L., De la Rosa, R. y Belaj, A. 2011b. Mejora genética del olivo. III Jornadas Nacionales del Grupo de Olivicultura de la SECH, Sevilla (España). p. 63-66.
- León, L., Garrido-Varo, A. and Downey, G. 2004a. Parent and Harvest Year Effects on Near-Infrared Reflectance Spectroscopic Analysis of Olive (*Olea europaea* L.) Fruit Traits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4957-4962.
- León, L., Martín L. M. and Rallo, L. 2004b. Phenotypic correlations among Agronomic Traits in Olive Progenies. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129 (2): 271-276.
- León, L., Martín, L. M. and Rallo, L. 2004c. Repeatability and Minimum Selection Time for Fatty Acid Composition in Olive Progenies. *HortScience* 39 (3): 477-480.
- León, L., Rallo, L., Del Río, C. and Martín, M. 2004d. Variability and early selection on the seedling stage for agronomic traits in progenies from olive crosses. *Plant Breeding* 123: 73-78.
- León, L., Rallo, L. y Garrido, A. 2003. Análisis de aceituna intacta mediante espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIRS): una herramienta de utilidad en programas de mejora de olivo. *Grasas y Aceites* 54: 41-47.
- León, L., Santos-Antunes, A. F., Martín, L. M., Garrido, A. y Rallo, L. 2005b. Obtención de nuevas variedades por cruzamientos. En: Variedades de olivo en España (Libro III: Mejora genética y biotecnología). Luis Rallo, Diego Barranco, Juan Manuel Caballero, Carmen del Río, Antonio Martín, Joan Tous e Isabel Trujillo. (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- León, L., Uceda, M., Jiménez, A., Martín, L. M. and Rallo, L. 2004e. Variability of fatty acid composition in olive (*Olea europaea* L.) progenies. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2 (3): 353-359.
- Lewis, R., Yoxall, A., Canty, L. A. and Reina-Romo, E. 2007. Development of engineering design tools to help reduce apple bruising. *Journal of Food Engineering* 83 (3): 356-365.
- Limbo, S. and Piergiovanni, L. 2006. Shelf life of minimally processed potatoes. Part1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. *Postharvest Biology and Technology* 39: 254-264.
- Liu, Z., Ma, H., Zhang, X., Pan, Y. and Zhang, J. 2010. Peach fruit suture softening regulated by the interaction of nitrogen with cytokinin and ethylene. *Scientia Horticulturae* 125: 654-657.

## L

- López-López, A., García-García, A., Arroyo-López, F. N. y Garrido-Fernández, A. 2006. Características nutricionales del aceite de oliva y las aceitunas de mesa. Enciclopedia del Olivo, Vol. 2. Madrid. Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA).
- Loukas, M. and Krimbas, C. B. 1983. History of olive cultivars based on their genetic distances. *Journal of Horticultural Science* 58: 121-127.
- Lu, F., Ishikawa, Y., Kitazawa, H. and Satake, T. 2010. Measurement of impact pressure and bruising of apple fruit using pressure-sensitive film technique. *Journal of Food Engineering* 96: 614-620.
- Lu, R., 2003. Detection of bruises on apples using near-infrared hyperspectral imaging. *American Society of Agricultural Engineers* 46 (2): 523-530.
- Lu, R., Chen, Y. R., Park, B. and Choi, K. H. 1999. Hyperspectral imaging for detecting bruises in apples. ASAE Paper No. 013076, St. Joseph, Michigan.
- Lupiañez, J. A. 2010. Compuestos triterpénicos de las aceitunas con actividad antitumoral. El ácido maslínico induce apoptosis de forma selectiva en células humanas de carcinoma de colon a través de la ruta apoptótica mitocondrial. III Jornadas Internacionales de Aceituna de mesa, Sanlúcar la Mayor (Sevilla). Libro de Ponencias y Comunicaciones. p. 24.

## M

- Macheix, J. J., Fleuriet, A. and Billot, J. 1990. Fruit phenolics. Boca Roton, FL: CRC Press.
- Mafrá, I., Barros, A. S., Nunes, C., Rui, V., Saraiva, J., Smith, A. C., Waldron, K. W., Delgadillo, I. and Coimbra, M. A. 2006. Ripening-related changes in the cell walls of olive (*Olea europaea* L.) pulp of two consecutive harvests. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 988-998.
- Mafrá, I., Lanza, B., Reis, A., Marsilio, V., Campestre, C., Mario De Angelis, M. and Coimbra, M. A. 2001. Effect of ripening on texture, microstructure and cell wall polysaccharide composition of olive fruit (*Olea europaea*). *Physiologia Plantarum* 111: 439-447.
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medioambiente). 2011. Anuario de Estadística Agroalimentaria y Pesquera. Junta de Andalucía. [www.magrama.gob.es](http://www.magrama.gob.es)
- Maldonado, M. B., Zuritz, C. A., Wuilloud, R. G., Bageta, C. R., Terreni, J. and Sánchez, M. J. 2011. A simple model of the diffusion phenomena taking place during the debittering process of green table olives. *Grasas y Aceites* 62 (1): 39-48.
- Marsilio, V., Lanza, B. and De Angelis, M. 1996. Olive Cell Wall Components: Physical and Biochemical Changes during Processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70: 35-43.
- Martínez, M. V. and Whitaker, J. R. 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Science Technology* 6: 195-200.
- Matheis, G. 1983. Enzymatic browning of foods. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung* 176: 454-462.



## M

- Matteucci, M., D'Angeli, S., Errico, S., Lamanna, R., Perrotta, G. and Altamura, M. M. 2011. Cold affects the transcription of fatty acid desaturases and oil quality in the fruit of *Olea europaea* L. genotypes with different cold hardiness. *Journal of Experimental Botany* 62 (10): 3403-3420.
- Menesatti, P. and Paglia, G. 2001. Development of a drop damage index of fruit resistance to damage. *Journal of Agricultural Engineering Research* 80 (1): 53-64.
- Menesatti, P., Paglia, G., Solaini, S., Zanella, A., Stainer, R., Costa, C. and Cecchetti, M. 2002. Nonlinear multiple regression models to estimate the drop damage index of fruit. *Biosystems Engineering* 83 (3): 319-326.
- Mitsuhashi-Gonzalez, K., Pitts, M. J., Fellman, J. K., Curry, E. A., and Clary, C. D. 2010. Bruising profile of fresh apples associated with tissue type and structure. *American Society of Agricultural and Biological Engineers* 26 (3): 509-517.
- Moral, J., Barranco, D., Muñoz-Díez, C., Rallo, L., León, L. and De la Rosa, R. 2010. Earliness of Bearing in Olive Progenies. *Acta Horticulturae* 924: 341-347.
- Morales, J., Ramírez, P., Jiménez, B. y López, I. 2007. Efectos de la recolección mecanizada sobre la calidad final de las aceituna de mesa. *Oleo* 119: 104-112.
- Morales-Sillero, A. 2005. Influencia de la fertirrigación (N-P-K) sobre el desarrollo y producción de plantas de olivo cv. Manzanilla de Sevilla. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Morales-Sillero, A. M., Fernández-Cabanás, V. M., Casanova, L., Jiménez, R., Suárez, M. P. and Rallo, P. 2011. Feasability of NIR spectroscopy for non-destructive characterization of table olive traits. *Journal of Food Engineering* 107 (1): 99-106.
- Morales-Sillero, A. M., Rapoport, H. F., Fernández J. E. and Troncoso, A. 2008. Olive fruit pulp and pit growth under differing nutrient supply. *Scientia Horticulturae* 117 (2): 182-184.
- Moreno-Álias, I., Rapoport, H. F., León, L. and De la Rosa, R. 2010a. Olive seedling first flowering position and management. *Scientia Horticulturae* 124: 74-77.
- Moreno-Álias, I., Rapoport, H. F., López, R., León, L. and De la Rosa, R. 2010b. Optimizing early flowering and pre-selection for short juvenile period in olive seedlings. *Hortscience* 45: 519-522.
- Muñoz-Díez, C., Belaj, A., Barranco, D. y Rallo, L. 2004. Olivos monumentales de España. Ediciones Mundi-Prensa, UnoEdiciones. Madrid.
- Muñoz-Díez, C., Belaj, A., Trujillo, I., Barrio, E., Barranco, D. y Rallo, L. 2009. Origen y distribución de las variedades tradicionales de olivo en Andalucía. II Jornadas Nacionales del Grupo de Olivicultura de la SECH, Tarragona (España). p. 14.
- Murad, W. 2002. Metodología para el análisis histológico cuantitativo del sistema radical del olivo: efectos de micorización. Tesis de Master of Science en Olivicultura y Elaiotecnía, E. T. S. I. A. M. Universidad de Córdoba.
- Murata, M., Tsurutani, M., Tomita, M. and Homma, S. 1995. Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 1115-1121.

## N

- Nogata, Y., Yoza, K.-i., Kusumoto, K.-i. and Ohta, H. 1996. Changes in molecular weight and carbohydrate composition of cell wall polyuronide and hemicelluloses during ripening in strawberry fruit. *Pectins and Pectinases* 14: 591-596

## N

---

Norma cualificada unificada aplicable a las aceitunas de mesa en el comercio internacional (COI/OT/MO n°1-N° DEC 21/96 de 2008). [www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org).

## O

---

Opara, L. U. 2007. Bruise susceptibilities of ‘Gala’ apples as affected by orchard management practices and harvest date. *Postharvest Biology and Technology* 43: 47-54.

## P

---

Pang, D. W., Studman, C. J., Banks, N. H. and Baas, P. H. 1996. Rapid assessment of the susceptibility of apples to bruising. *Journal of Agricultural Engineering Research* 64: 37-48.

Park, E. Y. and Luh, B. S. 1985. Polyphenol Oxidase of Kiwifruit. *Journal of Food Science* 50: 678-684.

Pasini, L., Ragni, L., Rombola, A. D., Berardinelli, A., Guarnieri, A. and Marangoni, B. 2004. Influence of the fertilization system on the mechanical damage of apples. *Biosystems Engineering* 88 (4): 441-452.

Pastor, M., Márquez, J., Herruzo, B. y Porras, A. 1979. Recolección mecanizada de aceituna de mesa para aderezo al estilo sevillano. CEDEMETO, Córdoba.

Percy, A. E., Melton, L. D. and Jameson, P. E. 1997. Xyloglucan and hemicelluloses in the cell wall during apple fruit development and ripening. *Plant Science* 125: 31-39.

Pholpho, T., Pathaveerat, S. and Sirisomboon, P. 2011. Classification of longan fruit bruising using visible spectroscopy. *Journal of Food Engineering* 104: 169-172.

## R

---

Rallo, L. 2005. Variedades de Olivo en España: una aproximación cronológica. En: *Variedades de Olivo en España (Antecedentes y Presentación)*. Luis Rallo, Diego Barranco, Juan Manuel Caballero, Carmen Del Río, Antonio Martín, Joan Tous e Isabel Trujillo. (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

Rallo, L. 1995. Selección y mejora genética del olivo en España. *Olivae* 59 (12): 46-53.

Rallo, L. 1994a. Evaluación agronómica y obtención de nuevas variedades de olivo. En: *Olivicultura*. Fundación “La Caixa”-Agrolatino. p. 17-27.

Rallo, L., Barranco, D., De la Rosa, R. and León, L. 2011a. Advances in the Joint UCO-IFAPA Olive Breeding Program (JOBP). *Acta Horticulturae* 924: 283-290.

Rallo, L., Barranco, D., De la Rosa, R. and León, L. 2008a. ‘Chiquitita’ olive. *HortScience* 43: 529-531.

Rallo, L., El Riachy, M. and Rallo, P. 2011b. The time and place for fruit quality in olive breeding. In: *Breeding for fruit quality*. Matthew. A. Jenks & Penelope. J. Bebeli (Eds.). Wiley-Blackwell, West Sussex, UK. Garsington Road

Rallo, L. y Cuevas, J. 2008. Fructificación y producción. En: *El cultivo del olivo*. Diego Barranco, Ricardo Fernández-Escobar y Luis Rallo (Eds.). Junta de Andalucía Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.



## R

- Rallo, L. y Muñoz-Díez, C. 2010. El olivar en un tiempo de cambio. Citoliva Edición.
- Rallo, P. 2001. Desarrollo y aplicación de marcadores microsatélites en olivo (*Olea europaea* L.). Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Rallo, P. 1994b. El papel de los procesos celulares en el crecimiento del fruto en cinco cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). Proyecto fin de carrera. Universidad de Córdoba.
- Rallo, P., Jiménez, R., Ordovás, J. and Suárez, M. P. 2008b. Possible early selection of short juvenile period olive plants based on seedling traits. *Australian Journal of Agricultural Research* 59: 933-940.
- Rallo, P., Morales-Sillero, A. M., Jiménez, R., Casanova, L., Fernández-Cabanás, V. M. y Suárez, M. P. 2011c. Mejora genética de aceituna de mesa. III Jornadas Nacionales del Grupo de Olivicultura de la SECH, Sevilla (España). p. 59-62.
- Rallo, P., Morales-Sillero, A. M. y Suárez, M. P. 2012. Andalucía: El Olivar. Grupo de Estudios Avanzados sobre Territorio y Medio Ambiente "Textura" (En prensa).
- Ramírez, E. M., Brenes, M., Medina, E., De Castro, A. y Romero, C. 2012. Correlación entre la composición polifenólica y la actividad oxidativa en aceitunas. IV Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa, Córdoba. Libro de Ponencias y Comunicaciones: nº 24 (p. 106-107).
- Rangel, B., Platt, K. A. and Thomson, W. W. 1997. Ultrastructural aspects of the cytoplasmic origin and accumulation of the oil in the olive fruit (*Olea europaea*). *Physiologia Plantarum* 101: 109-114.
- Rapoport, H. F. 2008. Botánica y morfología. En: El Cultivo del Olivo. Diego Barranco, Ricardo Fernández-Escobar y Luis Rallo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Rapoport, H. F., Hammami, S. B. M., García-Cuevas, E., Pérez-Expósito, A., Catillo-Llanque, F. y Moreno-Alías, I. 2012. Estructura de la zona exterior de la aceituna: Composición celular y potencial relación con el régimen de riego y los daños del molestado. IV Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa, Córdoba. Libro de Ponencias y Comunicaciones: nº 30 (p. 118-119).
- Real Decreto 1230/2001. Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, circulación y venta de las aceitunas de mesa. BOE nº 279 de 21 de noviembre de 2001.
- Redgwell R. J, Melton L. D and Brasch D. J. 1991. Cell-wall polysaccharides of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*): effect of ripening on the structural features of cell-wall materials. *Carbohydrate Research* 209: 191-202.
- Rejano, L. 1999. La manzanilla fina sevillana. *Grasas y Aceites* 50: 60-66.
- Rejano, L., Sánchez, A. H. y Vega, V. A. 2008. Nuevas tendencias en el tratamiento alcalino "cocido" de las aceitunas verdes aderezadas al estilo español o sevillano. *Grasas y Aceites* 59 (3): 197-204.
- Rejano, L. y Garrido, A. 2008. El aderezo de las aceitunas. En: El cultivo del olivo. Diego Barranco, Ricardo Fernández-Escobar y Luis Rallo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Riquelme, M. T., Barreiro, P., Ruiz-Altisent, M. and Valero, C. 2008. Olive classification according to external damage using image analysis. *Journal of Food Engineering* 87: 371-379.
- Romero, C., García, A., Medina, E., Ruiz-Méndez, M. V., de Castro, A. and Brenes, M. 2010. Triterpenic acids in table olives. *Food Chemistry* 118 (3): 670-674.

## R

- Romig, W. R. 1995. Selection of cultivars for lightly processed fruits and vegetables. *HortScience* 30: 38-40.
- Roth, I. 1977. Fruits of angiosperms. Berlin-Stuttgart: Gebruder Borntraeger.

## S

- Sakai, W. S. 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. *Stain Technology* 48 (5): 247-249.
- Salmerón, E. 1983. Características estructurales de la raíz del olivo (*Olea europaea* L.). Trabajo Fin de Carrera. Universidad de Córdoba.
- Samim, W. and Banks, N. H. 1993. Color changes in bruised apple fruit tissue. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 21: 367-372.
- Sánchez-Gómez, A. H., García-García, P. and Rejano, L. 2006. Trends in table olive production. *Grasas y Aceites* 57 (1): 86-94.
- Sánchez-Gómez, A. H., Rejano, L. y Montaña, A. 1985. Determinación del color en las aceitunas verdes aderezadas de la variedad Manzanilla. *Grasas Aceites* 36: 258-261.
- Sánchez-Gómez, A. H. y Fernández-Díez, M. J. 1991. Correlación entre materia grasa, azúcares reductores y humedad en la pulpa de aceitunas. *Grasas y Aceites* 42: 414-419.
- Sansavini, S., Belfanti, E., Costa, F. and Danati, F. 2005. European apple breeding programs turn to biotechnology. *Chronica Horticulturae* 45: 16-19.
- Santos-Antunes, A. F., León, L., De la Rosa, R., Alvarado, J., Mohedo, A., Trujillo, I. and Rallo, L. 2005. The length of the juvenile period in olives as influenced by vigor of the seedlings and the precocity of the parents. *HortScience* 40: 1213-1215.
- Santos-Antunes, A. F., Mohedo A., Trujillo, I. and Rallo, L. 1999. Influence of the genitor son the flowering of olive seedlings under forced growth. *Acta Horticulturae* 474: 103-105.
- Saracoglu, T., Ucer, N. and Ozarslan, C. 2011. Engineering Properties and Susceptibility to Bruising Damage of Table Olive (*Olea europaea*) Fruit. *International Journal of Agriculture & Biology* 13: 801-805.
- Sass, J. E. 1958. Botanical Microtechnique Iowa State University Press, Ames Iowa. 228pp.
- Schulte-Pason, N. L., Brown, G. K. and Timm, E. J. 1992. Apple impact damage thresholds. *Applied Engineering in Agriculture* 8 (1): 55-60.
- Sedgley, M. and Wirthensohn, M. 2000. The Australian olive improvement programme. *Olivae* 83: 27-30.
- Segovia-Bravo, K. A., García-García, P., López-López, A. and Garrido-Fernández, A. 2011. Effect of Bruising on Respiration, Superficial Color, and Phenolic Changes in Fresh Manzanilla Olives (*Olea europaea pomiformis*): Development of Treatments To Mitigate Browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 5456-5464.
- Segovia-Bravo, K. A., Jarén-Galán, M., García-García, P. and Garrido-Fernández, A. 2010. Treatments to inhibit the browning reactions in model solutions of olive fruit extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 123: 741-746.

## S

- Segovia-Bravo, K. A., Jarén-Galán, M., García-García, P. and Garrido-Fernández, A. 2009. Browning reactions in olives: Mechanism and polyphenols involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 114: 1380-1385.
- Segovia-Bravo, K. A., Jarén-Galán, M., García-García, P. and Garrido-Fernández, A. 2007. Characterization of Polyphenol Oxidase from the Manzanilla Cultivar (*Olea europaea pomiformis*) and Prevention of Browning Reactions in Bruised Olive Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 6515-6520.
- Sekse, L. 1995. Fruit cracking in sweet cherries (*Prunus avium* L.). Some physiological aspects-a mini review. *Scientia Horticulturae* 63:135-141.
- Servili, M., Minnocci, A., Veneziani, G., Taticchi, A., Urbani, S., Esposto, S., Sebastiani, L., Valmorri, S. and Corsetti, A. 2008. Compositional and Tissue Modifications Induced by the Natural Fermentation Process in Table Olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 6389-6396.
- SIGPAC (Sistema de Información Geográfica de identificación de parcelas agrícolas). 2012. <http://sigpac.mapa.es/fega/visor/>.
- Suárez, M. P., Casanova, L., Jiménez, R., Morales-Sillero, A., Ordovás, J. and Rallo, P. 2011. Variability of first flower to ground distance in olive seedlings and its relationship with the length of the juvenile period and the parent genotype. *Scientia Horticulturae* 129: 747-751.

## T

- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*. 3rd ed. Sunderland, Mass: Sinauer Associates Inc.
- Tous, J., Romero, A. y Plana, J. 2005. Producción (Banco de Germoplasma de Cataluña). En: *Variedades de olivo cultivadas en España (Libro II: Variabilidad y selección)*. Luis Rallo, Diego Barranco, Juan Manuel Caballero, Antonio Martín, Carmen Del Río, Joan Tous e Isabel Trujillo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Tous, J. y Romero, A. 2005. Rendimiento graso de la aceituna (Banco de Germoplasma de Cataluña). En: *Variedades de olivo cultivadas en España (Libro II: Variabilidad y selección)*. Luis Rallo, Diego Barranco, Juan Manuel Caballero, Antonio Martín, Carmen Del Río, Joan Tous e Isabel Trujillo (Eds.). Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

## U

- UCO (Universidad de Córdoba) 2012. [www.sikitita.es](http://www.sikitita.es)

## V

- Van Linden, V., Scheerlinck, N., Desmet, M. and De Baerdemaeker, J. 2006. Factors that affect tomato bruise development as a result of mechanical impact. *Postharvest Biology and Technology* 42: 260-270.
- Van Zeebroeck, M., Van Linden, V., Darius, P., De Ketelaere, B., Ramon, H. and Tijssens, E. 2007a. The effect of fruit factors on the bruise susceptibility of apples. *Postharvest Biology and Technology* 46: 10-19.

## V

- Van Zeebroeck, M., Van Linden, V., Ramon, H., De Baerdemaeker, J., Nicolaï, B. M. and Tijskens, E. 2007b. Impact damage of apples during transport and handling. *Postharvest Biology and Technology* 45: 157-167.
- Visser, T., Verhaegh, J. J. and De Vries, D. P. 1976. A comparison of apple and pear seedlings with reference to the juvenile period. I. Seedling growth and yield. *Euphytica* 25: 343-351.

## W

- Wakabayashi K., Chun, J. P. and Huber, D. J. 2000. Extensive solubilisation and depolymerization of cell wall polysaccharides during avocado (*Persea americana*) ripening involves concerted action of polygalacturonase and pectinmethylesterase. *Physiol Plant* 108: 345-352.
- Wesche-Ebeling, P. and Montgomery, M. W. 1990. Strawberry polyphenol oxidase: extraction and partial characterization. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 55: 1320-1325.
- Wisseman, K. W. and Montgomery, M. W. 1985. Purification of d'Anjou pear polyphenol oxidase. *Plant Physiology* 78: 256-262.

## X

- Xing, J., Bravo, C., Jancsok, P., Ramon, H. and De Baerdemaeker, J. 2005. Bruise detection on Golden Delicious apples by using hyperspectral imaging with multiple wavebands. *Biosystems Engineering* 90 (1): 27-36.

## Y

- Yang, C. P., Fujita, S., Ashrafuzzaman, M., Nakamura, N. and Hayashi, N. 2000. Purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa sapientum* L.) pulp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 8: 2732-2735.
- Yurtlu, Y. B. and Erdoğan, D. 2005. Effect of Storage Time on Some Mechanical Properties and Bruise Susceptibility of Pears and Apples. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 29: 469-482.

## Z

- Zeinanloo, A., Shahsavari, A. Mohammadi, A. and Naghavi, M. R. 2009. Variance component and heritability of some fruit characters in olive (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae* 123: 68-72.
- Zimmerman, R. H. 1977. Relation of pear seedling size to length of the juvenile period. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 102: 443-447.
- Zohary, D. and Hopf, M. 1994. *Domestication of Plants in the Old World* (2nd Edition), Clarendon, Oxford.
- Zohary, D. and Spiegel-Roy, P. 1975. Beginning of fruit growing in the old World. *Science* 187: 319-327.



Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola  
Facultad de Química. UNIVERSIDAD DE SEVILLA